

LA BIOLOGIA MODERNA ILLUSTRATA

1. La vita della cellula

Gli acidi nucleinici dirigono le proteine

1.01 È lecito e possibile definire la vita?

Quando si deve trattare un argomento, è cosa seria incominciare col delimitarlo e definirlo. Talvolta ciò è bello e necessario, sovente soltanto convenzionale, e perciò noioso e per lo più inutile. Con la vita, oggetto della biologia, è invece assolutamente impossibile, quasi illecito. Si potrebbe dire inversamente che la vita è caratterizzata dal fatto che si sottrae a qualsiasi definizione globale.

Ciò stupisce. In fondo ogni uomo di quando in quando si pone il più interessante dei problemi, quello della vita. Qualcuno, soprattutto gli artisti, i filosofi ed i saggi, ci ha tramandato i suoi pensieri e le sue speculazioni, in tale misura da impedirci una visione d'insieme. Ma in realtà nessuno ha ancora detto in modo convincente che cosa sia la vita.

D'altra parte il contributo dei naturalisti è più o meno uguale, o inferiore, poiché nessuno di loro osa definire la vita nel suo insieme: essi si limitano ad osservare gli esseri viventi e a descriverne, analizzarne e spiegarne le manifestazioni vitali. Questo però comporta qualcosa di più che semplici pareri non impegnativi, poiché le esperienze acquisite sono riproducibili e possono, con la continuazione degli esperimenti, essere confermate, e quindi, per i naturalisti, dimostrate.

La constatazione dei fatti risale ai tempi di Aristotele; si è ampliata considerevolmente negli ultimi decenni, ed attualmente dilaga come una valanga. È già sufficiente per poter dire che cosa sia la vita in realtà? A questa domanda dobbiamo rispondere re-

cisamente di no. Il materiale a nostra disposizione non basta, e probabilmente non basterà mai. Tuttavia è sufficiente per chiarire e per spiegare numerosi ed importanti processi vitali, fino al livello delle molecole che, attive o passive, vi partecipano. Tra di essi esistono fenomeni che avranno influenza determinante sul futuro della nostra vita. Di questi possiamo già farci un'idea. E con questo libro cercheremo di offrire al lettore una loro immagine così come oggi essa si presenta al biologo.

Rinunciamo perciò ad una vuota definizione e torniamo agli esseri viventi. La vita non è una cosa che esista libera nello spazio o nella materia; la vita è sempre insita negli organismi viventi, e nel caso più semplice nell'organismo della cellula. Che esso viva lo riconosciamo dalle sue manifestazioni vitali: dal ricambio, come la respirazione o la digestione, dalla crescita, dallo sviluppo, dall'invecchiamento e persino dalla morte. Sono perciò le *funzioni* che ci denunciano il fenomeno vita.

Ma, come si è appena detto, le funzioni non operano libere nello spazio, bensì sono sempre intrinseche agli organismi, alle cellule, o, più esattamente, sono vincolate alla *struttura delle cellule*. *Struttura e funzione* — oppure anche forma e manifestazione vitale — sono i due aspetti della vita che si condizionano a vicenda.

Non si può e non si deve trattarli separatamente per non creare una scissione, ma si può e si deve trattarli uno dopo l'altro. Tuttavia è indifferente con quale dei due aspetti si incominci.

Il più evidente a tutta prima sembra l'aspetto strutturale della cellula. Il lettore lo ha

certo presente con alcuni particolari come la membrana cellulare, il citoplasma, il nucleo, i granuli di clorofilla delle piante verdi, ecc. Ma noi viviamo in un'epoca funzionale, e non è perciò dovuto al caso se l'analisi delle funzioni è più progredita.

Inoltre è preconconcetto credere che le cose più evidenti debbano anche essere le più semplici. Proprio il settore delle funzioni del ricambio è molto più trasparente, anche se molto vasto nel suo insieme. E visto che da qualche parte bisogna incominciare, incominciamo dall'insieme delle funzioni del ricambio.

1.02 La vita considerata come ricambio

La trasformazione del nutrimento

Intendiamo per ricambio la trasformazione di sostanze.

Nella digestione ad esempio assumiamo sostanze nutritive ed eliminiamo escrezioni: queste ultime non assomigliano più alle prime. Chi vive bene non mangia più di quanto gli occorre e mantiene il suo peso. Chi mangia troppo ingrassa ed accumula grassi nei tessuti del corpo, anche se introduce poche sostanze grasse, ed al loro posto dolciumi o bevande. Tutti sanno che in questo caso è avvenuta una trasformazione di idrati di carbonio (zucchero) in grassi.

Al ricambio appartiene anche lo sminuzzamento degli alimenti ingeriti. Con questo non si intende la frantumazione meccanica del masticare, bensì la scomposizione chimica delle grandi molecole delle sostanze nutritive in piccoli o piccolissimi frammenti. (Abbiamo introdotto intenzionalmente il termine "molecole di sostanze nutritive": con la biologia moderna ci troviamo infatti nell'ambito delle molecole.)

Non importa quali delle nostre sostanze nutritive consideriamo (siano esse idrati di carbonio, come lo zucchero e l'amido, proteine

o grassi): le sostanze di partenza hanno pesi molecolari che vanno da 1.000 a 100.000, i frammenti si aggirano intorno a 100, e certi prodotti terminali vanno da 20 a 40. Se prendiamo a confronto l'acqua con la sua nota formula H_2O , abbiamo un peso molecolare complessivo — dato dalla somma di 2 atomi di idrogeno, ciascuno di peso atomico 1, e di 1 atomo di ossigeno il quale ha un peso molecolare 16 — equivalente a $2 + 16 = 18$.

Nella demolizione chimica delle molecole di sostanze nutritive viene liberata energia che era imprigionata nella sostanza di partenza e che ora viene messa a disposizione della cellula nella quale avviene tale trasformazione: energia a disposizione in primo luogo per il mantenimento del processo vitale assai dispendioso d'energia, ed in secondo luogo per la fabbricazione di nuove sostanze necessarie come elementi costitutivi di nuove cellule, per la sostituzione di parti usurate e deteriorate o per qualsiasi altro scopo particolare.

Questo equilibrio tra demolizione e sintesi, tra produzione e consumo di energia, merita un capitolo a sé; per ora a noi interessa solo quanto è comune a tutte queste trasformazioni: esse si compirebbero anche senza l'intervento della cellula vivente, ma così lentamente che in molti casi nel tempo di una vita umana non si otterrebbe un risultato misurabile. Tra l'altro, ciò è dovuto al fatto che le sostanze interessate sono *sostanze organiche*, cioè *composti di carbonio*, che a differenza degli ioni inorganici sono eccezionalmente pigri nelle loro reazioni.

Questi reagiscono fulmineamente fra di loro: se lasciamo cadere una goccia di nitrato d'argento in una soluzione di sale da cucina, immediatamente si forma un precipitato di cloruro d'argento. Se invece mescoliamo glicerina ed acidi grassi (che sono le pietre da costruzione delle sostanze grasse), anche dopo parecchi giorni non rintracceremo grassi.

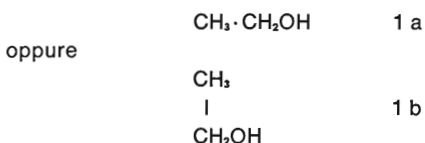
Che aspetto hanno i composti di carbonio?

Dovremo trattare sovente con composti contenenti carbonio e con la loro struttura molecolare; perciò non possiamo esimerci dal tradurre queste strutture in formule, e dobbiamo accordarci su di un modo possibilmente unitario di rappresentazione: gli atomi di carbonio (C) si uniscono volentieri con atomi di idrogeno (H), di ossigeno (O) e di azoto (N), per citare solo i più importanti.

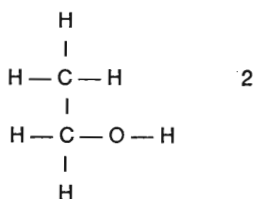
Prendiamo come esempio il comune alcool etilico. Una sua molecola contiene due atomi di carbonio, sei di idrogeno e uno di ossigeno.

La sua formula bruta si scrive correttamente C_2H_6O . Essa ha tuttavia un significato del tutto insufficiente perché infatti esistono numerosi composti di carbonio i quali hanno la medesima formula bruta ma sono costruiti in modo totalmente diverso. Per evitare confusioni si usa perciò una via di mezzo tra la formula bruta ed una "rappresentazione spaziale".

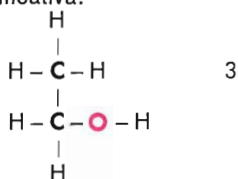
Per l'alcool etilico



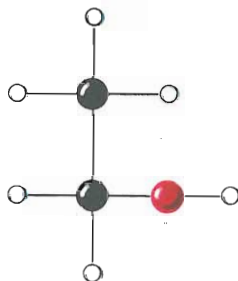
Il chimico o il biologo molecolare sa allora esattamente di quale composto si tratti. Un lettore non pratico può forse rendersi conto meglio di questi rapporti con la formula di struttura:



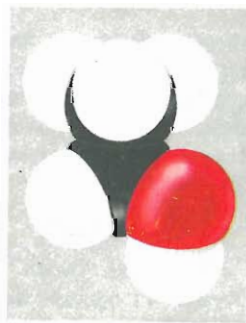
Con colori diversi diventa evidentemente ancora più significativa:



ed infine si possono rappresentare gli atomi con sferette colorate:



Ma per quanto plastico possa apparire, tutto ciò esige un lavoro supplementare ed inutile, poiché il lettore deve tradurre i segni in simboli: sfere grosse e nere = C, sfera grossa e rossa = O, sfere piccole e bianche = H. E quando vi si aggiungano atomi di altri elementi e la molecola diventi sempre più grande, egli deve distinguere tra troppi colori e troppe dimensioni di sfere.



Modello di struttura tridimensionale dell'alcool etilico; riproduce diametro, distanze e disposizione spaziale degli atomi nella molecola.

Inoltre, questo genere di rappresentazione mediante sfere ci induce in due grossi errori. Primo: le distanze esistenti in realtà fra gli atomi sono molto inferiori a quelle della figura alla p. precedente; le sferette sono addossate le une alle altre e rendono la figura poco chiara (i cosiddetti "modelli a calotta"). Secondo: i legami all'interno di una molecola non sono in nessun caso situati su di un piano, vale a dire sul piano del foglio, ma si estendono in tutte e tre le direzioni dello spazio. Ma le raffigurazioni tridimensionali comportano ulteriori complicazioni, specialmente quando ci troviamo di fronte a grosse molecole costituite da centinaia di atomi. Perciò useremo formule di struttura così come rappresentate in 1 b, poiché riducono gli errori al minimo e si guadagna notevolmente in chiarezza.

1.03 Gli enzimi assicurano il ricambio.

Lasciando ora le formule di struttura, ritorniamo ai composti organici del carbonio. Sappiamo che reagiscono molto pigramente fra di loro. Con trasformazioni tanto lente è evidente che non si possa mantenere la vita; la cellula vivente — e consideriamola come rappresentante di tutti gli organismi pluricellulari — si è perciò procurata degli strumenti che accelerano queste reazioni. Sono i *fermenti* o *enzimi*.

Un tempo si faceva distinzione fra fermenti ed enzimi: per fermenti (dal latino *fermentum* = lievito) si intendevano sostanze libere, secrete dalla cellula ed operanti esteriormente ad essa, come ad esempio nell'intestino; per enzimi (probabilmente dal greco *zymoun* = provocare fermentazione, o forse anche dal greco *kytos* = recipiente, vacuolo) si intendevano invece sostanze legate alla "forma" ed operanti solo all'interno della cellula. Da quando invece Buchner nel 1897 dimostrò che si può estrarre dalla cellula (del lievito) il fermento della fermentazione alcolica — che per molto

tempo fu considerato il prototipo degli enzimi — e che la sua attività permane anche in provetta, cioè in vitro, questa distinzione si rivelò arbitraria. Da allora si usano i due termini con ugual significato.

Uno di questi enzimi scinde la molecola dello zucchero di canna o saccarosio in una molecola di glucosio ed una di fruttosio. Mentre però il *substrato*, cioè la sostanza su cui agisce l'enzima, quindi nel nostro caso lo zucchero di canna, durante la reazione viene energicamente trasformato, l'enzima, all'opposto, rimane intatto e può intaccare una molecola dopo l'altra del saccarosio. Ciò significa che una molecola di enzima può elaborare una quantità incomparabilmente superiore di substrato, di quanto rappresenti la propria massa. La figura a p. 19 simboleggia due enzimi in attività: l'enzima 1 riduce in dischi un tronco d'albero affettandolo da una estremità, l'enzima 2 spacca in due questi dischi. La produzione giornaliera di un enzima come quello simboleggiato è considerevole; di molti enzimi propri della cellula si sa che un unico esemplare (si tratta di una molecola, anche se di grandi dimensioni) nello spazio di un minuto può scomporre fino a cinque milioni di molecole del substrato, e ciò alla temperatura di zero gradi.

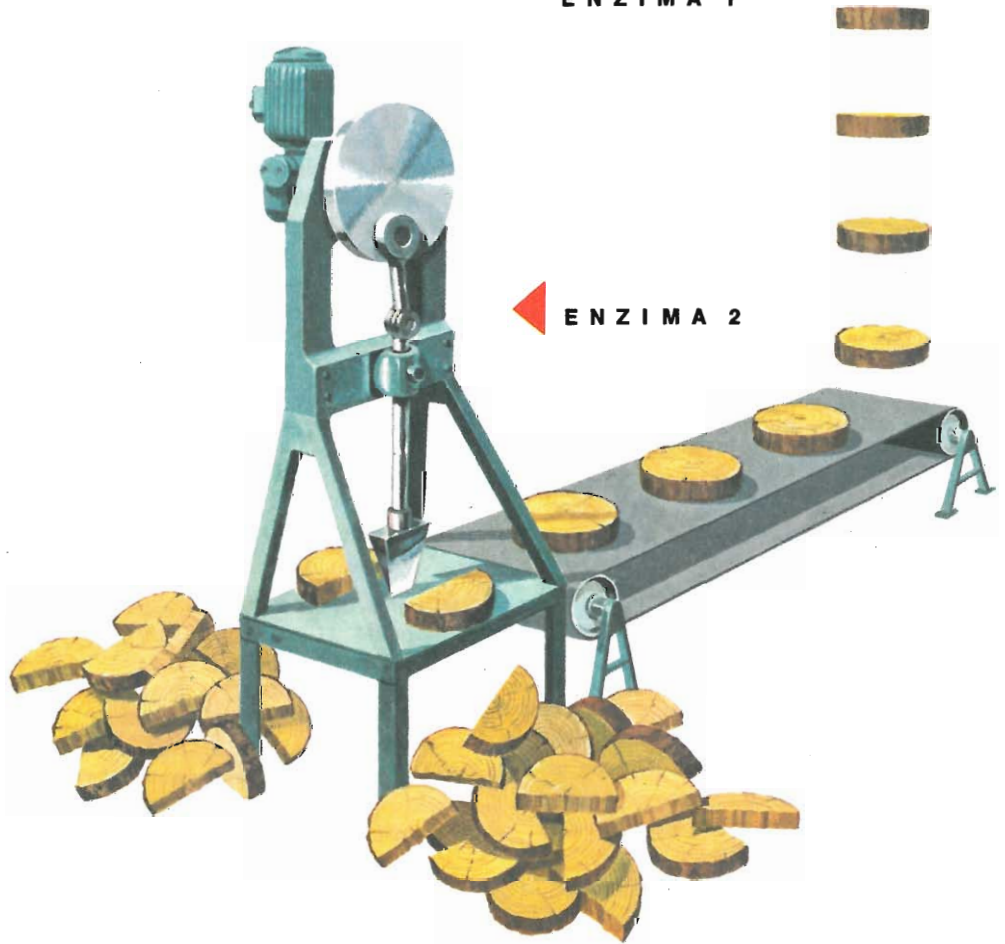
Gli enzimi sono specializzati

La figura rappresenta, sebbene in modo non molto preciso, anche un'altra proprietà degli enzimi. Non si tratta di strumenti universali, bensì di utensili specializzati. Come un cacciavite serve per avvitare ma non per segare, e una sega serve per segare ma non per avvitare, così accade anche per un enzima. Ognuno di essi può espletare un'unica e ben definita attività. Inoltre la specializzazione è duplice: da un lato riguarda il substrato che deve essere elaborato, dall'altro, il modo di elaborarlo. Ritorniamo nuovamente all'enzima che scin-

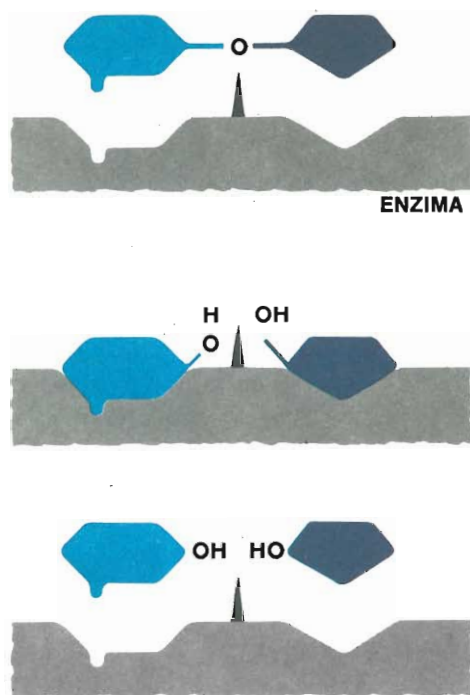
Gli enzimi assicurano il ricambio



ENZIMA 1



Una sega e una trancia per raffigurare due diversi enzimi.



Una molecola di saccarosio (blu) è scissa alla superficie dell'enzima (grigio) in una di glucosio e in una di fruttosio con assunzione di acqua.

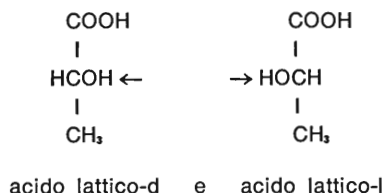
de lo zucchero. Una molecola di zucchero di canna (saccarosio) è composta da 1 molecola di glucosio e da 1 di fruttosio. L'enzima saccarasi non fa altro che dividere una molecola di saccarosio nelle sue due parti costituenti, e ciò precisamente con assunzione di acqua. Elabora saccarosio e solo saccarosio, e null'altro può fare con questa sostanza se non interrompere il ponte esistente tra le due parti con assunzione di acqua, cioè, in termini chimici, *idrolizza*. Agisce perciò con *specificità di substrato* (solo sul saccarosio) e con *specificità di azione* (solo idrolizzando). La sua qualità di enzima viene definita dalla desinenza -asi che si aggiunge al nome del substrato (*saccharum* = zucchero): saccarasi. Volen-

do anche esprimere nella denominazione la sua specificità di azione, l'enzima dovrebbe allora chiamarsi: saccarosio-idrolasi.

Un altro gruppo di enzimi scinde l'idrogeno dal substrato: sono le deidrogenasi. Esse possiedono stessa specificità d'azione; si distinguono per il substrato dal quale asportano l'idrogeno: c'è una deidrogenasi dell'acido lattico, una deidrogenasi dell'acido succinico, ecc.

Altri enzimi sono meno difficili nella scelta. Ad esempio le lipasi, enzimi che provocano la scissione dei grassi (= lipidi) e che sono prodotti dal pancreas, separano gli acidi grassi dalla glicerina in quasi tutti i grassi.

Ad essi si contrappongono enzimi che sono talmente specializzati da distinguere due "stereo-isomeri" fra di loro. Ci spieghiamo. Di molti composti organici esistono due o più forme, che si distinguono unicamente dalla posizione di certi gruppi di atomi, come ad esempio l'acido lattico:

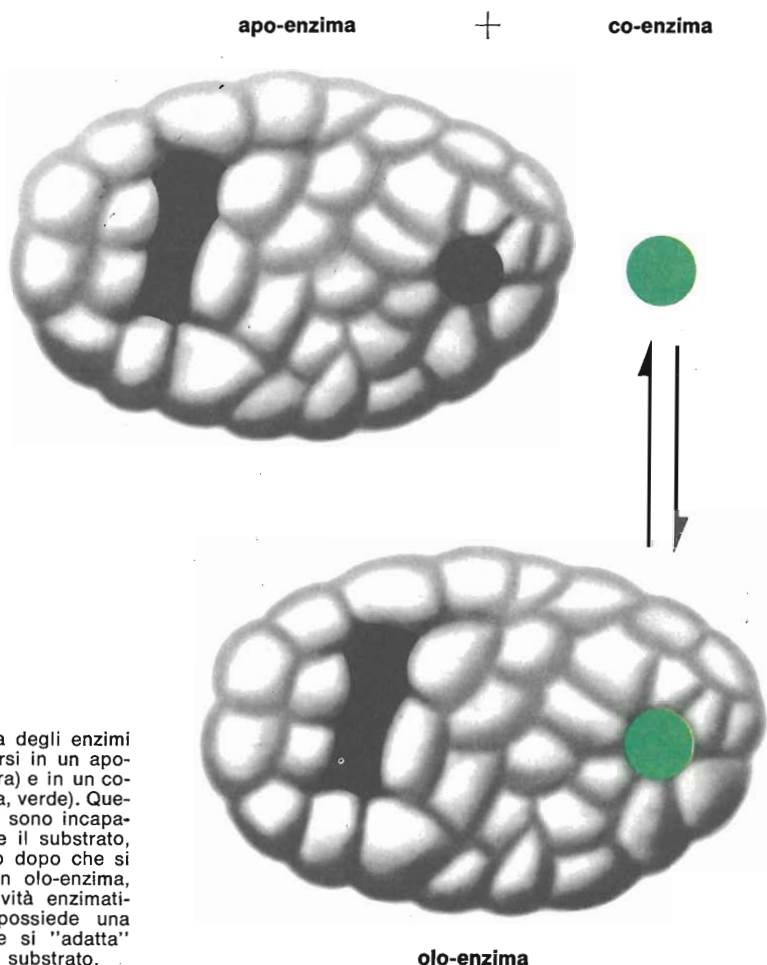


Da un punto di vista chimico hanno identiche proprietà. (Tuttavia si distinguono per l'aspetto fisico, poiché fanno ruotare il piano della luce polarizzata in sensi opposti; si dicono perciò anche "antipodi ottici". Ma tutto ciò per ora non ci deve interessare.) Se aggiungiamo un enzima specializzato in una mistura delle due forme, si osserva con stupore che solo una delle due viene elaborata mentre l'altra rimane intatta. Abbiamo detto che alcune molecole di enzimi possono in un solo minuto scindere fino a 5 milioni di molecole di substrato. Ciò potrebbe far pensare che un enzima tratti con il "suo" substrato a distanza, al-

trimenti come potrebbe portare a termine una simile prestazione? È giusto esattamente il contrario: l'enzima entra in stretto contatto con il suo substrato; si parla proprio per questo di un composto enzima-substrato. Un substrato può essere trasformato chimicamente solo quando è legato all'enzima; successivamente il prodotto finale (ad esempio le due parti derivate dalla scissione) viene liberato e l'enzima è nuovamente disponibile per un'altra reazione.

Un matrimonio tra compagni dissimili

Da quanto precede risulta — insieme a tanti altri fatti meno importanti per i rapporti che stiamo indagando — che alla duplice specificità corrisponde una duplice attività: dapprima riconoscere e captare il substrato, poi trasformare chimicamente il substrato al quale l'enzima si è legato. A queste due funzioni corrispondono anche due parti diverse dell'enzima. La maggior parte degli



La maggioranza degli enzimi possono dividersi in un apo-enzima (a sinistra) e in un co-enzima (a destra, verde). Queste due frazioni sono incapaci di modificare il substrato, se isolate. Solo dopo che si è ricostituito un olo-enzima, ricompare l'attività enzimatica. L'enzima possiede una zona alla quale si "adatta" la molecola di substrato.

enzimi può infatti suddividersi in un *apo-enzima* ed in un *co-enzima*. Presa singolarmente, ciascuna di queste due parti è incapace di modificare il substrato; solo quando si riuniscono nuovamente in un *olo-enzima* (dal greco *holos* = completo, unito), l'attività enzimatica ricompare.

Le due parti di un enzima sono molto dissimili: il co-enzima è una sostanza chimicamente ben caratterizzata, a basso peso molecolare, talvolta solo uno ione metallico come rame o molibdeno; l'apo-enzima invece ha un alto peso molecolare ed è costituito senza eccezioni da albume: è una *proteina*. Si conoscono migliaia di enzimi e con questi anche migliaia di apo-enzimi. Il numero dei co-enzimi, per contro, è sorprendentemente piccolo: solo alcune dozzine. Più sopra (vedi p. 20) avevamo riunito in un solo gruppo gli enzimi separatori dell'idrogeno. Se ne esaminiamo i co-enzimi, troviamo che sovente (non sempre) si tratta di uno stesso composto chimico, contenente tra l'altro amide dell'acido nicotinico ed acido fosforico. La sua formula di struttura è nota, ma qui non occorre precisarla. Chiunque abbia usato preparati a base di vitamine sa dall'etichetta che l'amide dell'acido nicotinico appartiene al gruppo delle vitamine B.

Non tutti i co-enzimi asportatori di idrogeno sono costruiti secondo il modello dell'amide dell'acido nicotinico; alcuni contengono riboflavina = vitamina B₂.

Non è un caso che riboflavina e amide dell'acido nicotinico siano vitamine. Un gruppo di enzimi che asportano anidride carbonica (CO₂) da composti organici possiede come co-enzima il pirofosfato di tiamina; si tratta di tiamina unita a 2 molecole di acido fosforico. La tiamina = aneurina è conosciuta da tutti sotto il nome di vitamina B₁. Ed il co-enzima degli enzimi che trasferiscono gruppi aminici (—NH₂) è il piridoxalfosfato = piridossina = vitamina B₆.

Saremmo tentati di approfondire questi rapporti così stretti tra vitamine, co-enzimi e

ricambio, ma dobbiamo rinunziarvi per porre attenzione ad un altro fatto, cioè che i co-enzimi sono noti come i portatori della *specificità d'azione*. Essi provocano, a seconda della loro non proprio semplice costituzione chimica, la trasformazione del substrato che si è legato all'enzima, ad esempio asportandogli atomi d'idrogeno o gruppi —CO₂ o —NH₂. Così caricati possono abbandonare l'apo-enzima al quale si erano fino a quel momento associati per migrare su di un altro apo-enzima, con diversa specificità di substrato, e cedervi l'atomo di idrogeno o gli altri gruppi. Questi trasporti sono sempre reazioni chimiche ben comprensibili.

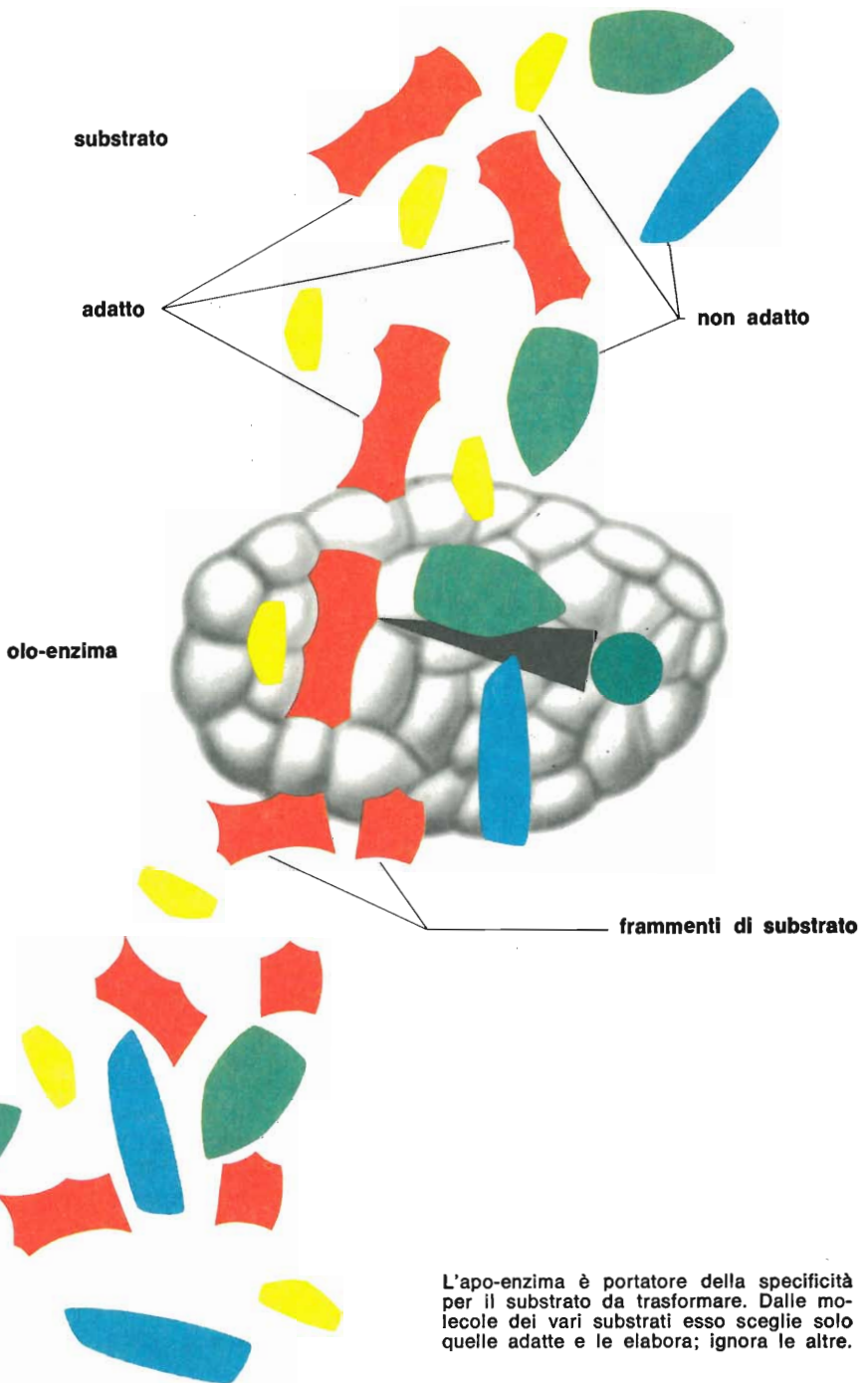
Ma sulla scelta del substrato da elaborare pare che i co-enzimi non abbiano alcuna influenza. La scelta del substrato, la formazione del legame enzima-substrato, è compito dell'apo-enzima, cioè della frazione proteica. L'enzima proteina è perciò il portatore della *specificità di substrato*, e poiché questa specificità è molto spinta — abbiamo visto che un enzima è in grado di distinguere persino tra due "antipodi ottici" — ecco che si affaccia immediatamente la domanda: come "sa" l'enzima che si deve legare ad un substrato piuttosto che ad un altro (visto che questo legame *non* è lasciato al caso)?; per mezzo di che cosa un enzima-proteina può cogliere differenze tanto sottili? Lo ha appreso, oppure ha acquisito questa capacità nel momento in cui veniva formato?

Per rispondere a questa domanda dovremo occuparci delle particolarità delle proteine.

1.04 Cose vecchie e nuove sulle proteine

Materiale e piani di costruzione

Per albume si intendeva un tempo la parte incolore del contenuto dell'uovo di gallina, una sostanza semifluida e quasi trasparente quando non è cotta, vischiosa, filante e che



si conserva male. Più tardi passò a significare tutta una classe di sostanze (le proteine), che sono di aspetto e di comportamento simili, che si ritrovano in ogni cellula vivente, ove formano la massa principale del protoplasma. Mutevole nella forma, idrofila ma non solubile in acqua, miscuglio di numerosi composti albuminosi, colloidale, perciò appiccaticcia e vischiosa e di conseguenza non cristallizzabile, questa sostanza fu per molti proprio la materia vivente.

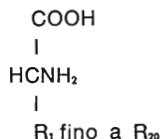
Quanti ricercatori e maestri hanno parlato con riverente timore dell' "albumine vivente"! Anche quando il limo primordiale estratto dalle profondità marine, che ancora Ernst Haeckel pensava fosse la misteriosa materia viva, si rivelò nient'altro che gelatina inanimata di acido silicico, il concetto di albumine rimase sempre legato ad un qualcosa di primigenio e di informe. Ancora nel 1923 Oscar Hertwig credeva in componenti cellulari ricchi di proteine « al di sotto del limite di visibilità al microscopio, ma le cui proprietà vitali (assimilazione, crescita, riproduzione per scissione) nettamente separano dagli atomi e dalle molecole della chimica e della fisica ». Una volta, un noto biologo disse ai chimici: « Se riuscite a fabbricare una vera proteina, allora dovrebbe anche sapersi muovere ». Di tutto ciò oggi è rimasto ben poco. È vero che oggi conosciamo proteine che — distese — si accorciano e poi si distendono nuovamente, però non fanno ciò da sé, ma soltanto se per questa attività si fornisce loro di continuo dell'energia. Tutto ciò si può esprimere con esattezza mediante formule chimiche e addirittura con facili dati sulla concentrazione. Al giorno d'oggi, con metodi ed apparecchi altamente specializzati, si possono non solo separare le diverse proteine, anche se molto simili, ma purificarle ed arricchirle al punto di farle cristallizzare e porle in condizioni adatte all'analisi chimica e fisica. Il riverente timore di fronte all'ignoto dovrebbe essere dissipato, ma subentra ora stupore e rispetto per l' "architettura" del-

le proteine, che unisce in modo quasi irripetibile inimmaginabile varietà e mirabile unitarietà.

Esistono milioni di proteine; molte sono ben conosciute, anche nei minimi particolari; tutte sono costituite solo di 20 componenti diversi, appartenenti tutti alla medesima categoria di composti: sono gli *aminoacidi*. Quale principio sta alla base di questa costruzione?

Tutti gli aminoacidi che si possono ottenere dalla scomposizione delle proteine sono costruiti secondo un medesimo schema:

1. ad un'estremità esiste un gruppo acido (gruppo carbossilico, $-\text{COOH}$);
2. nelle sue immediate vicinanze, sul secondo atomo di carbonio, cioè in posizione α (alfa), si inserisce un gruppo aminico (basico, $-\text{NH}_2$);
3. infine un "residuo" R; nel caso più semplice un atomo d'idrogeno, mentre in aminoacidi di maggiori dimensioni si hanno complicati sistemi di anelli:



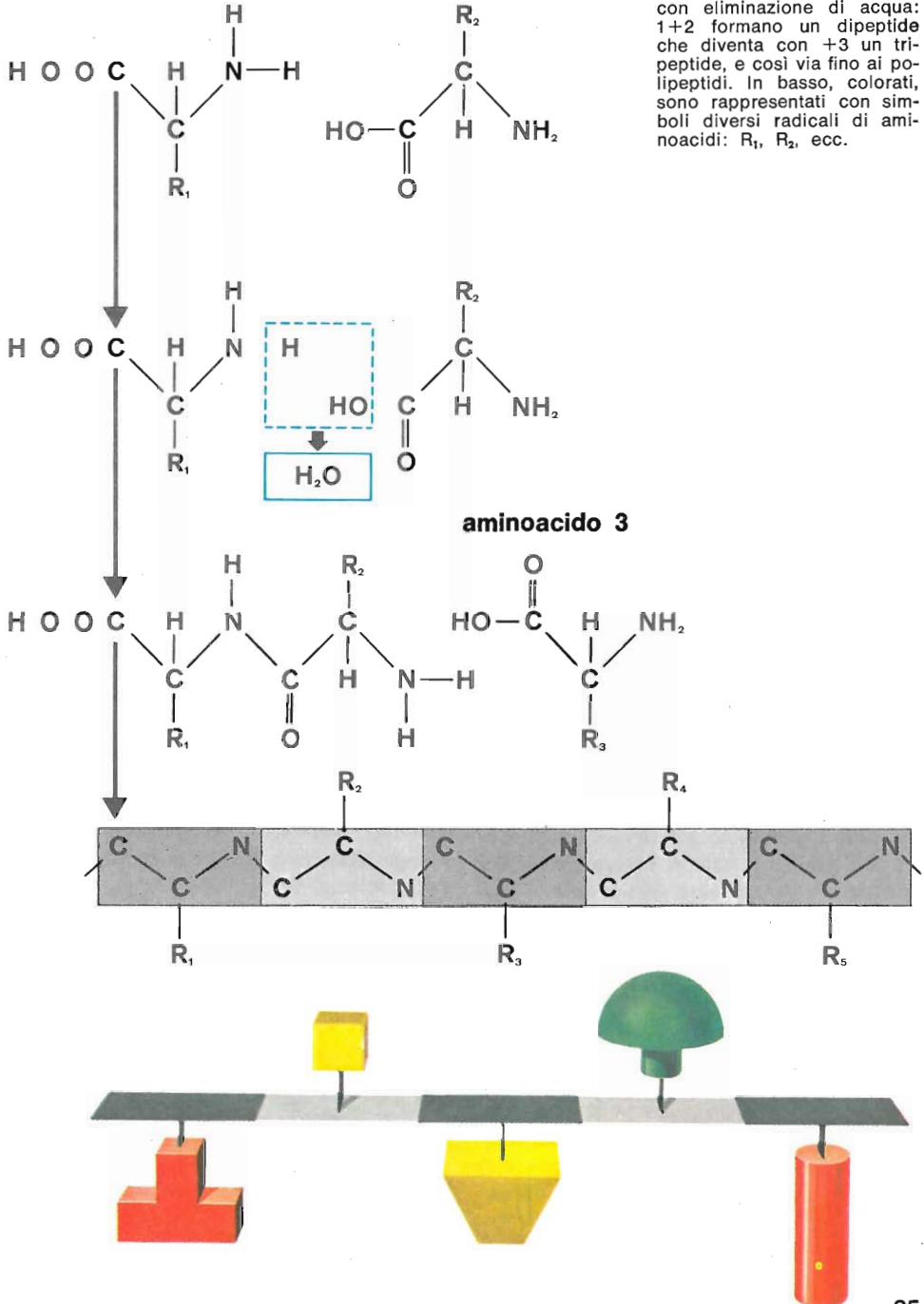
(Una prima osservazione: esistono anche aminoacidi in cui il gruppo $-\text{NH}_2$ non risiede sul secondo atomo di carbonio, bensì su uno successivo, in posizione β (beta), γ (gamma), δ (delta) eccetera; ma simili aminoacidi normalmente non compaiono nelle proteine.)

Ecco alcuni nomi di importanti aminoacidi: alanina, acido glutamico, acido aspartico, prolina, cistina, leucina. Due aminoacidi possono combinarsi per formare un *dipeptide*: con l'eliminazione di una molecola d'acqua si stabilisce un legame tra l'aminogruppo del primo ed il gruppo carbossilico del secondo. La cellula può ripetere questo processo quanto vuole; da un dipeptide si forma un tri-, un tetra- ed infine un *polipeptide*, che rappresenta una catena più o meno lunga

aminoacido 1

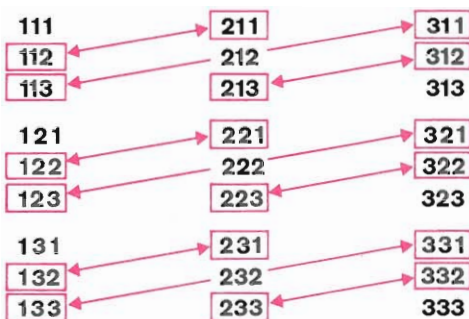
aminoacido 2

Combinazione di aminoacidi con eliminazione di acqua: 1+2 formano un dipeptide che diventa con +3 un tripeptide, e così via fino ai polipeptidi. In basso, colorati, sono rappresentati con simboli diversi radicali di aminoacidi: R_1 , R_2 , ecc.



di "residui" di aminoacidi allineati. A ragione le proteine possono anche dirsi poliaminoacidi. Evidentemente i caratteri acido ed aminico si perdono in conseguenza del congiungimento delle molecole in un'unica catena, ma in parecchi "residui" esistono altri (secondi) gruppi acidi ed aminici liberi. Una singola catena contiene da 100 a 30.000 elementi = residui; il suo peso molecolare varia così da circa 17.000 fino a 5 milioni. (E siccome nel campo molecolare queste sono cifre grosse, grossissime, si parla di *macromolecole*, — dal greco *makros* = grande — come anche per altre sostanze chimiche organiche, come la cellulosa o le sostanze plastiche.) Se la lunghezza della catena fosse l'unico elemento determinante e distintivo, potrebbero esistere soltanto circa 29.900 proteine diverse, il che è troppo poco. Nella ricerca di altre caratteristiche differenziali, si dovette ben presto constatare che non è indifferente la posizione occupata dai singoli aminoacidi; anzi la successione, la sequenza degli aminoacidi ha un significato importantissimo.

Per maggior chiarezza consideriamo dapprima un semplice *tripeptide*. È costituito da 3 diversi aminoacidi, numerati 1, 2 e 3, i quali, come è facile constatare, possono combinarsi in 27 modi diversi ($3 \times 3 \times 3 = 3^3 = 27$), dando luogo ad altrettanti tripeptidi. Di questi, tuttavia, solo $2 \times 9 = 18$ differiscono soltanto per il fatto di essere l'immagine speculare l'uno dell'altro. Se dovessimo "leggere" il tripeptide indifferente dalla cima o dal fondo, avremmo solo 18 combinazioni diverse possibili, 9 dovendo essere escluse perché immagini speculari di combinazioni già esistenti. Ma dalla fabbricazione dei polipeptidi, della quale dovremo ancora occuparci, sappiamo che la maggioranza di essi si deve leggere soltanto in *una* direzione. È quanto avviene con i numeri telefonici: il 1234 mette in comunicazione con un abbonato diverso dal 4321. Ogni successione di cifre nel suo assieme è perciò caratteristica di un utente; ogni aminoacido,



Con tre diversi aminoacidi — 1, 2, 3 — si possono formare in totale 27 diverse combinazioni a tre a tre. Quelle inquadrate in rosso e collegate da una freccia sono specularmente uguali.

in un tripeptide come in un polipeptide, è (o può essere) specifico nel conferire determinate proprietà.

Digressione sul calcolo combinatorio: quante proteine diverse possono esistere?

Le varie possibilità di combinare proteine diverse sorpassano ogni immaginazione. Si hanno a disposizione 20 aminoacidi differenti. Dovessimo con essi mettere assieme delle catene polipeptidiche di soli 100 residui di aminoacidi, otterremmo, espresse matematicamente, $20^{100} =$ circa 10^{130} possibilità diverse. 10^{130} consiste in un 1 seguito da 130 zeri: occorrono più di tre righe di stampa per scriverli. Questa cifra è oltre un bilione di volte superiore al numero degli atomi dell'universo intero!

Gli esseri viventi hanno perciò, almeno in teoria, infinite più possibilità di quante non potranno mai attuare. È chiaro che esistono condizioni limitative, probabilmente anche molto severe, ma tutto sommato possono solo diminuire in modo insignificante le possibilità di variazioni. La futura evoluzione degli esseri viventi può condurci a differenziazioni ancora insospettite.

1.05 Catene, gomitoli, eliche

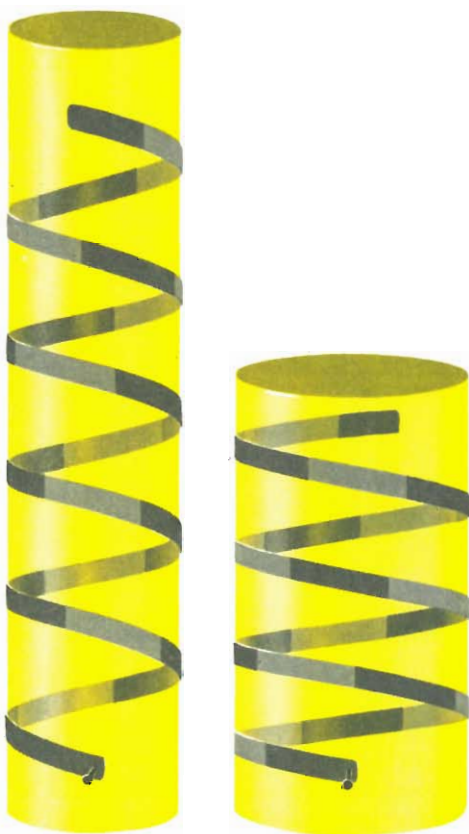
L'architettura delle proteine attraverso la sequenza degli aminoacidi

Le catene polipeptidiche delle proteine non sono affatto sempre in forma distesa. Al contrario, possono essere in modi diversi raggomitolate, arrotolate, ripiegate, totalmente o parzialmente. Una delle forme più frequenti è l'"elica", la "helix", per citare il nome originale coniato dai suoi scopritori, Pauling¹ e Corey, nel 1951. In questo caso la catena polipeptidica è regolarmente avvolta come un filo o un nastro su di un ipotetico rocchetto, che in realtà non esiste, ed è rappresentato da uno spazio cavo. Questa struttura molto regolare è stabilizzata da determinati legami tra le spire, i cosiddetti "ponti idrogeno". Per il momento questi non ci interessano; importante è solo il fatto che l'elica, che indichiamo come "struttura secondaria", è causata dalla "struttura primaria", cioè dalla ormai nota sequenza degli aminoacidi. Anche quando di una catena polipeptidica si avvolge solo un tratto, mentre l'altra parte rimane distesa o si raggomitola irregolarmente, ciò è sempre una conseguenza della struttura primaria.

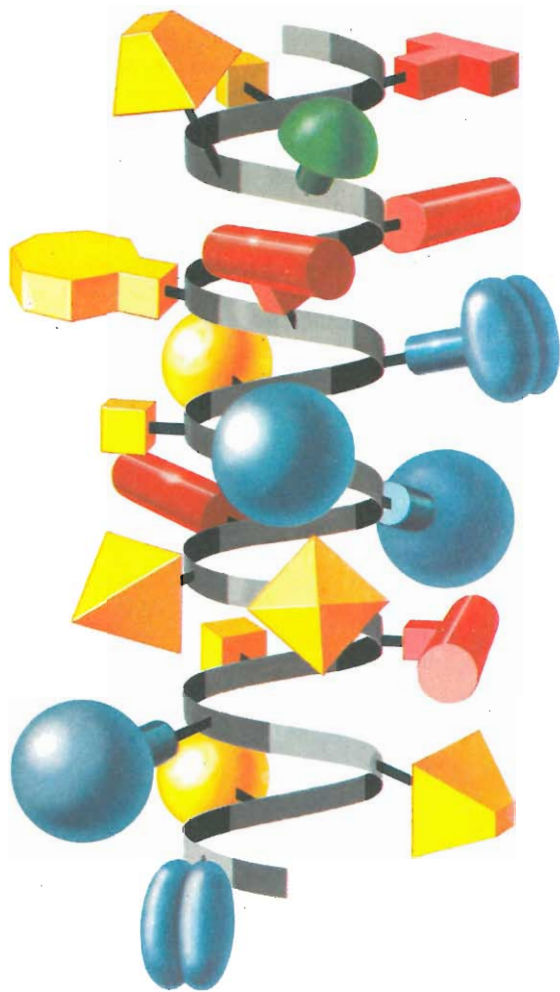
Una seconda forma di struttura secondaria è un'elica più larga con spire più ravvicinate. Se nella prima (α -helix) su 10 spire esistono 37 residui di aminoacidi, cioè 3,7 per spira, nella seconda (β -helix) ne esistono 51, e cioè 5,1 per spira. Entrambe queste forme possono trasformarsi l'una nell'altra. Ciò significa che nel passaggio dalla forma più allentata a quella di elica più stretta, cioè dalla forma α a quella β , il "rocchetto di filo" si accorcia e viceversa. Qui si deve accennare al fatto che nella contrazione muscolare hanno grande importanza questi accorciamenti di singole molecole proteiche.

Vediamo ora la figura a p. 28. Notiamo che

i residui degli aminoacidi non sono rivolti all'interno del cilindro dell'elica, e d'altronde non vi troverebbero posto. Sono invece diretti verso l'esterno, e fanno del liscio rocchetto un oggetto assai ingombrante, che appare addirittura spinoso. D'altra parte questi residui di aminoacidi non si trovano liberi nell'aria, bensì immersi in un mezzo acquoso. Molti aminoacidi — per alcuni, se non completamente, almeno per un tratto — possono legarsi più o meno saldamente a molecole d'acqua e formare intorno a sé veri involucri acquosi. In tal mo-



Catene polipeptidiche con struttura secondaria a spirale o, meglio, ad elica. A sinistra un' α -helix, a destra una β -helix più corta e "tozza".



α -helix raffigurata con i simboli dei residui degli aminoacidi R_1 , R_2 , ecc. proiettati all'esterno.

do la superficie dell'elica diventa un po' più liscia, ma pur sempre movimentata.

La superficie di una catena polipeptidica distesa possiede, esattamente come la superficie di una α - o β -helix, una "struttura" caratteristica che non è casuale, bensì rigorosamente determinata dalla successione de-

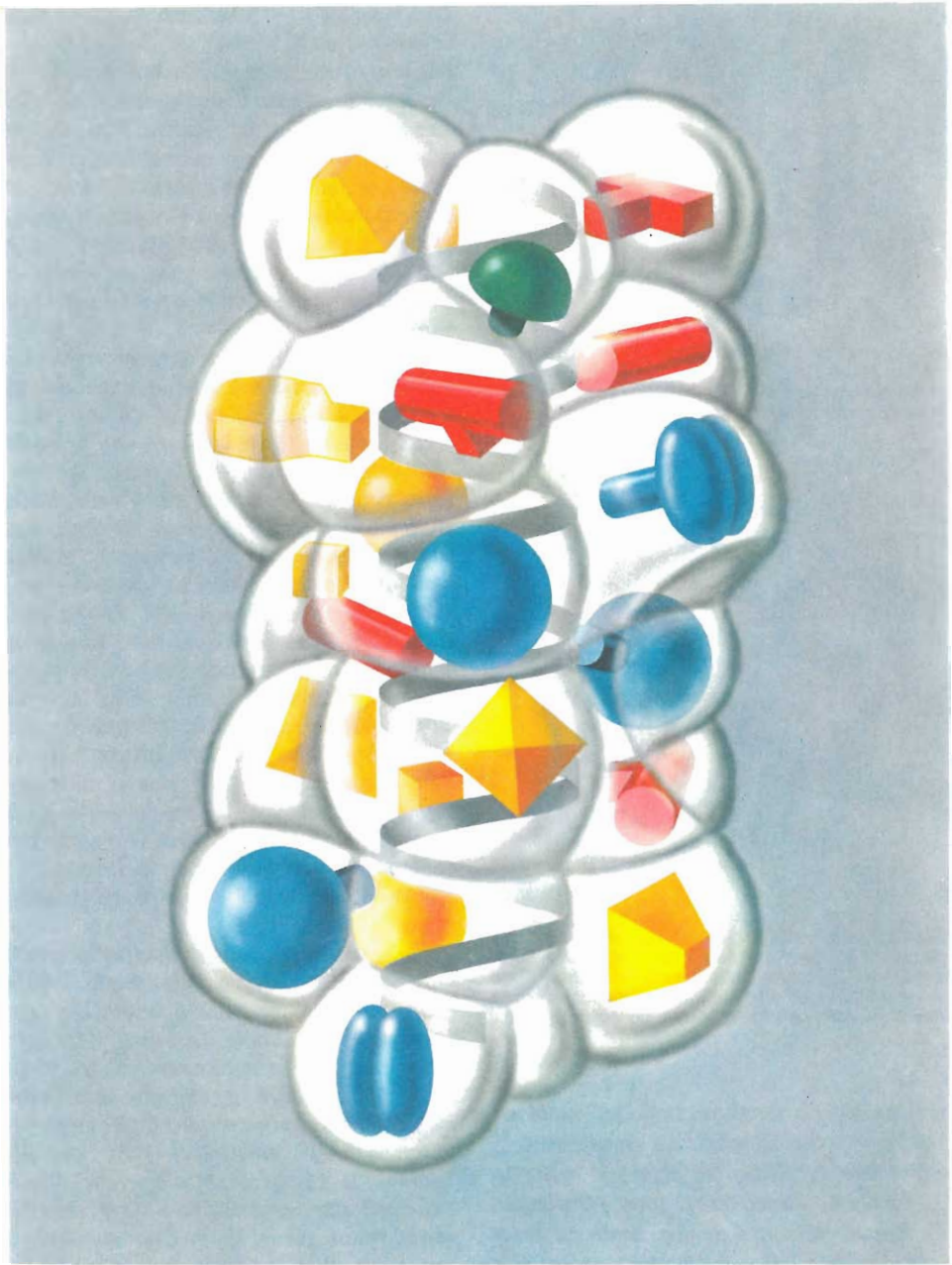
gli aminoacidi nella catena, cioè dalla struttura primaria. Se ad esempio un aminoacido a residuo corto (come potrebbe essere un gruppo $-\text{CH}_3$) è affiancato da due vicini con residuo lungo, si forma un piccolo infossamento, che diventa più largo quando sono due i "piccoli" aminoacidi compresi tra vicini "grandi".

In tal modo vengono costruite, predisposte, delle superfici a modello irregolare ma tuttavia "conforme ad una regola"; è facile constatare come tale modello sia di importanza determinante per le interazioni tra le proteine ed altri composti chimici: questi ultimi, che pure possiedono una forma spaziale, possono unirsi solo ad una proteina la cui superficie possieda una modellatura che loro corrisponda e, più precisamente, soltanto nel punto in cui la proteina ed il composto si adattano l'uno all'altra.

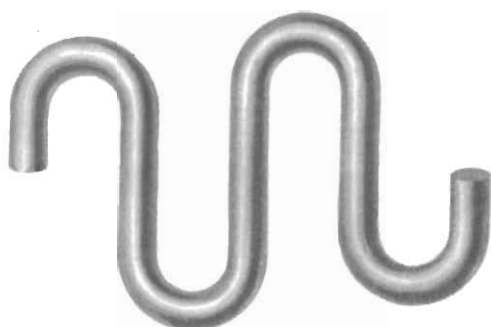
Ora dobbiamo solo sostituire i nomi di proteina e di composto associato rispettivamente con quelli di apo-enzima e di substrato, ed otteniamo uno schema che ci permette di sapere come e dove può, o non può, formarsi un legame tra enzima e substrato. Forse la superficie della molecola proteica è costituita in modo tale da adattarsi ad una sola specie di substrato?

Prima di accettare come vera questa supposizione dobbiamo ancora prendere in considerazione le *strutture terziarie* e *quaternarie*, che si lasciano ricavare molto più facilmente di quanto faccia supporre il loro nome.

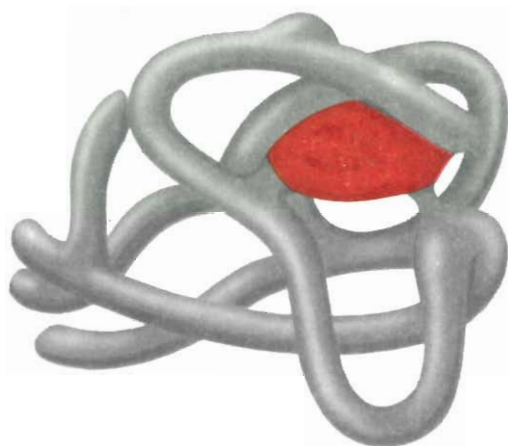
Così come la catena polipeptidica (struttura primaria) non è sempre distesa, anche la forma "helix" (struttura secondaria) non è sempre necessariamente un cilindro rettilineo. Può essere piegata in un determinato punto, e ciò ripetutamente. Se i "gomiti" risiedono tutti su uno stesso piano, si otterranno come "strutture terziarie" forme appiattite a disco, in caso contrario corpi rassomiglianti piuttosto a gomitoli. E quando infine una catena polipeptidica, e con essa un'elica, per giunta si ramifica, al-



La stessa α -helix della figura precedente inclusa in acqua; ogni residuo di aminoacido possiede, secondo la sua struttura, un involucro d'acqua più o meno voluminoso.



Se i gomiti di un' α -elix sono situati tutti sullo stesso piano, le "strutture terziarie" che si formano hanno l'aspetto di un disco, come si vede immaginando di stringere le sinuosità.



Quando un' α -elix si piega irregolarmente su se stessa e si ramifica, compaiono strutture tridimensionali approssimativamente sferiche. Ecco una molecola di mioglobina; la macchia rossa indica il componente colorato contenente ferro.

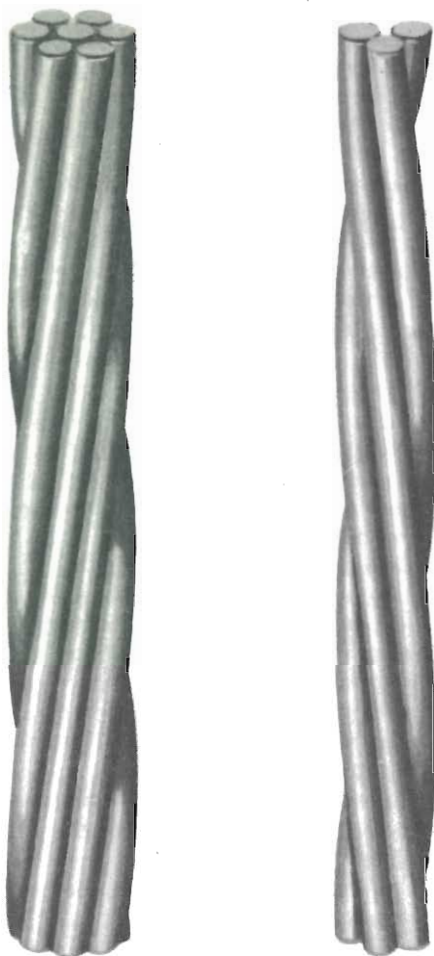
lora otteniamo strutture singolari come ad esempio la mioglobina. La mioglobina è una sostanza simile al pigmento colorato del sangue, l'emoglobina (che ritroveremo tra breve); si tratta di una sostanza colorata, presente nei muscoli, contenente ferro come l'emoglobina, e che partecipa attivamente al rifornimento di ossigeno delle cel-

lule muscolari. Il suo peso molecolare si aggira intorno a 17.000.

Si parla di *strutture quaternarie* quando più molecole proteiche si riuniscono in un complesso di maggiori dimensioni. Nel caso più semplice sono alcune α -elix che si accostano per formare una specie di cavo. (Ciò può naturalmente avvenire quando i residui esterni degli aminoacidi di ciascuna "elix" non si ostacolano a vicenda.) Ne risulta un complesso allungato che possiamo denominare proteina *lineare*.

Diversa e più complessa è la situazione nel pigmento colorato del sangue. L'emoglobina è costituita, come gli enzimi, da un componente proteico (globina) e da una sostanza colorante contenente ferro (emo). La porzione proteica è formata da 4 molecole di proteine, ciascuna con peso molecolare di circa 16.000. Le cose si complicano perché parti della catena polipeptidica presentano la struttura secondaria α -elix, mentre certe zone tra di esse comprese sono in disordine. Inoltre, quali strutture terziarie, compaiono delle pieghe nei tratti a elica, e 4 siffatte molecole formano la struttura d'insieme (quaternaria) dell'emoglobina con un peso molecolare di 64.450. Non si tratta perciò di una proteina lineare, ma *globulare*. In aggiunta, i 4 componenti formano due coppie di diversa lunghezza: due hanno nella catena 146 residui di aminoacidi ciascuno, gli altri due 41.

Nella molecola di emoglobina sono perciò rappresentate contemporaneamente tutte e quattro le strutture, dalla primaria alla quaternaria. E, da quanto sappiamo, dobbiamo affermare che la struttura spaziale della molecola definitiva è *derivata spontaneamente, quale conseguenza, dalla sequenza specifica degli aminoacidi nella struttura primaria*. È perciò quest'ultima che decide ("ordina" alla molecola) se e dove deve formarsi l'elica, se e dove deve piegarsi, e con quale altra molecola può infine unirsi. Le proteine, e perciò anche gli apo-enzimi, sono dunque altamente specializzate nella



Diverse eliche si riuniscono in fascio formando un cavo: struttura quaternaria costituita da più molecole proteiche fuse in un complesso di maggiori dimensioni. Nel caso più semplice si tratta di alcune α -helix che si accostano formando una proteina lineare.

loro struttura e possiedono una superficie caratteristica ed inconfondibile. Sono specializzate per un determinato substrato che non viene mai confuso con altri. La nostra supposizione di poc'anzi si è così rivelata esatta.

La sequenza è informazione e deriva dagli acidi nucleinici

Una risposta esatta ad un quesito scientifico pone subito un nuovo conseguente interrogativo. Così è anche nel nostro caso. Dato l'enorme numero di possibili combinazioni degli aminoacidi tra di loro (10^{130}), è assolutamente escluso che nella cellula avvengano tentativi a caso finché sia stata trovata la combinazione giusta della proteina. Questo modo di procedere richiederebbe un tempo immensamente lungo, molto più lungo di quanto ne occorra per azzeccare una cinquina al lotto. Ma allora, se così non può essere, occorre che la sequenza degli aminoacidi sia stata "dettata" fin dall'inizio della formazione della catena polipeptidica; ciò inoltre significa che proprio in questa sequenza di aminoacidi è depositata la *conoscenza di quale substrato debba poi essere elaborato*; la sequenza contiene un' "informazione". Questa informazione viene scritta con 20 lettere, e precisamente con i 20 aminoacidi, quasi fosse un alfabeto. Ma siccome il termine alfabeto potrebbe generare confusioni, si è preferito parlare di "codice" di 20 segni e di una



Modello della molecola di emoglobina: è formato da quattro sotto-unità proteiche accoppiate a due a due. I quattro dischi rossi rappresentano il componente colorato.

informazione codificata, il che significa informazione in messaggio cifrato. Chi conosce il codice, chi ne possiede la "chiave", può leggere questa informazione, può decifrare la notizia.

Ma, se già nella sintesi delle proteine è utilizzata e poi immagazzinata un'informazione, sorge la domanda fondamentale: donde proviene questa informazione, da chi emana, quale necessità ordina la sequenza di aminoacidi che deve essere mantenuta, oppure, in altre parole, dove risiede la fonte delle informazioni e chi le trasmette?

A prima vista si direbbe che questo problema sia identico a quello generale della formazione delle proteine. Ma l'apparenza inganna. È noto da tempo come si formi il legame peptidico per l'unione di due aminoacidi, e perciò come si produce un dipeptide. Fin dal 1912 Emil Fischer sintetizzò i primi peptidi. Certo, fu una sintesi in provetta, con mezzi chimici tanto energici che mai potranno essere usati da una cellula vivente, però si ottennero veri peptidi; fu un grande risultato di Fischer. Oggi si conoscono anche altre vie, che si avvicinano di più a quelle della cellula. Ma pur sempre i peptidi che si formano sono, in un certo senso, non codificati; sono costituiti o da un'unica specie di aminoacido (come, ad esempio, nella poli-alanina), o da poche specie, ed in questo caso la sequenza è più o meno casuale.

La nostra domanda fondamentale si svolge in tutt'altra direzione: non alla ricerca del chimismo del legame tra aminoacidi, bensì alla fonte delle informazioni, quella che regola e determina la successione degli aminoacidi, ed alle modalità di trasmissione e di sfruttamento di queste informazioni. Ciò non esclude che, rispondendo a questa domanda, si faccia un po' di luce anche sul chimismo della cellula.

È chiaro che questo problema fondamentale non possa essere risolto con i metodi chimici normali. E poiché in un primo tem-

po non si sapeva con esattezza quale fosse l'obiettivo, la risposta si fece molto aspettare. Centinaia di ricercatori si sono cimentati in questo studio con i metodi più disparati. Partendo da punti estremamente diversi hanno accumulato pietra su pietra. Alcune scoperte tanto esaltate in principio hanno condotto in vicoli ciechi, altre, casuali, che in un primo tempo passarono inosservate, hanno aperto invece nuove prospettive; se ne potrebbe scrivere un grande, affascinante romanzo. Ma tralasciamo i tentativi e le vie — sterili o feconde — seguite nel passato; perseguiamo invece il nostro scopo e cerchiamo di individuare nella cellula la fonte delle informazioni. Infatti una parte, una zona o una sostanza con queste proprietà deve pur esistere all'interno della cellula, dato che ogni cellula può di per sé sintetizzare proteine.

Il campo d'indagine si riduce, se si pensa che le proteine sono macromolecole. Poiché queste devono essere codificate con una sequenza e struttura strettamente specifiche ed inconfondibili, si potrebbe pensare ad un sistema di composizione analogo a quello del negativo in fotografia, o della impressione nella stampa dei dischi di grammofo, in cui il negativo è detto matrice. Infatti una specie di "Teoria delle matrici" fu molto presto enunciata per spiegare la sintesi delle proteine.

Ma difficilmente possiamo immaginare una matrice più piccola del positivo che deve stampare; vengono così escluse le sostanze a basso peso molecolare, e rimangono infine solo tre gruppi di composti macromolecolari nei quali possiamo supporre si trovino le matrici: primo, gli idrati di carbonio come l'amido, la cellulosa eccetera; secondo, gli acidi nucleinici; terzo, le proteine. Possiamo subito scartare le proteine. Infatti, se dovessero servire per codificare come matrici lo stampo proteico positivo, ossia l'enzima-proteina definitivo, esse dovrebbero a loro volta essere state codificate; e con

ciò ci troviamo di fronte alla stessa domanda: chi ha codificato la proteina-matrice?

Gli idrati di carbonio vanno ugualmente eliminati: in primo luogo perché sono per lo più non codificati; la cellulosa ad esempio è composta esclusivamente dall'unione di molecole di glucosio allineate. In secondo luogo, perché è accertato che la sintesi proteica può avvenire anche in assenza di idrati di carbonio.

Diversamente accade nel caso degli *acidi nucleinici*. La ricerca sulla sintesi proteica in seno alle cellule viventi o con certi componenti cellulari ha sempre dimostrato che questa sintesi *non è possibile in assenza* di acidi nucleinici. Di conseguenza i ricercatori di tutto il mondo si dedicarono con coerenza e costanza meravigliose al gruppo degli acidi nucleinici, e in meno di dieci anni i misteri dell'immagazzinamento delle informazioni e della loro trasmissione mediante gli acidi nucleinici stessi sono stati chiariti, almeno a grandi linee.

Il lettore si sarà reso conto, forse con una certa preoccupazione, che dovrà occuparsi anche della costituzione chimica degli acidi nucleinici. Infatti la biologia moderna non è pensabile senza la chimica, e senza che si conoscano la struttura e la funzione di molte molecole, in special modo degli acidi nucleinici.

In molti testi si legge che gli acidi nucleinici sono di costituzione ancora più complessa delle proteine, il che non è esatto. In realtà, come subito vedremo, gli acidi nucleinici sono di una stupefacente semplicità. Ma anche se davvero fossero più complicati di tutte le sostanze considerate, dovremmo rassegnarvici, poiché siamo di fronte a quelle sostanze sulla cui formidabile importanza tanto si è scritto negli ultimi tempi (anche se talvolta in modo poco comprensibile): DNA, RNA, m-RNA, eccetera sono solo determinate specie di acidi nucleinici.

1.06 Che cosa sono gli acidi nucleinici?

Quando Miescher, circa cento anni fa, scoprì gli acidi nucleinici e diede loro un nome, non sapeva certo molto di più del fatto che si trattava di sostanze a carattere acido, visto che erano averse di coloranti basici, e che si trovavano principalmente nei nuclei delle cellule, ciò che diede loro il nome. Oggi sono denominati "polinucleotidi". Anzitutto, con questo termine, si suole precisare che, analogamente alle proteine, costituite dalla giustapposizione di unità-aminoacido, e dette perciò più semplicemente poliaminoacidi, gli acidi nucleinici risultano dall'unione successiva di unità-nucleotide. Mentre nelle proteine possiamo contare su 20 aminoacidi diversi, i nucleotidi sono 8, e con questo le cose si semplificano notevolmente.

Per contro i nucleotidi sono a loro volta dei composti, come indicato nella figura a p. 34. Fortunatamente l'*acido fosforico* è lo stesso in tutti i casi. Per lo zucchero vi sono due possibilità: da un lato il *ribosio*, dall'altro il *desossiribosio*. Il ribosio è uno zucchero a soli cinque atomi di carbonio, mentre il glucosio ne ha sei. Il desossiribosio è detto così perché possiede un atomo di ossigeno in meno. Essi non compaiono mai insieme in un polinucleotide, ossia in una stessa molecola di acido nucleinico. Insieme si collegano sempre solo o ribosio-nucleotidi o desossiribosio-nucleotidi. Cioché si hanno due tipi di polinucleotidi, ossia di acidi nucleinici, secondo il loro zucchero. In modo abbreviato, gli zuccheri vengono indicati rispettivamente con D e R, e la parte acida con NA, ottenendo per i due acidi nucleinici le seguenti diciture:

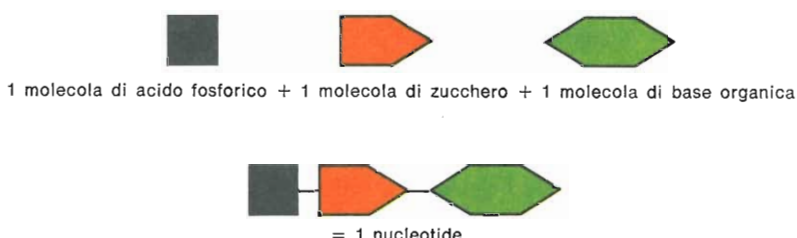
DNA = **Desoxiribose-Nucleic-Acid** = acido desossiribonucleico.

RNA = **Ribose-Nucleic-Acid** = acido ribonucleico.

In un primo tempo si era pensato che i due tipi fossero separati nella cellula, e precisamente che il DNA comparisse unicamente

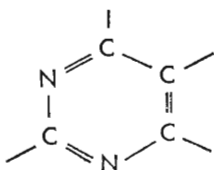
nel nucleo cellulare, e l'RNA unicamente al di fuori del nucleo, nel citoplasma (e con ciò veniva già invalidato il concetto primitivo di acidi "nucleinici"). Oggi le cose appaiono diverse: effettivamente la maggior

parte del DNA si trova nel nucleo, ed in particolare nei suoi cromosomi (vedi p. 73); però accanto a questo se ne trova tra l'altro nei cloroplasti (vedi p. 182) delle piante verdi. L'RNA dal canto suo non compare solo

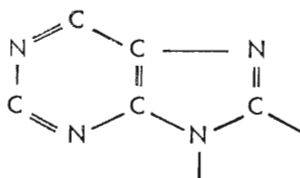


nel citoplasma, ma anche nei nucleoli, piccoli corpuscoli del nucleo, che si osservano, singoli o numerosi, nei nuclei di tutte le cellule. Infine, come se non bastasse, esistono persino molecole doppie, per così dire "bastarde"; una catena di DNA può unirsi, anche se solo temporaneamente, con una catena di RNA. Prima però di approfondire per qual motivo ed a quale scopo avvengano queste singolari mescolanze e separazioni, dobbiamo far conoscenza con il terzo componente dei nucleotidi, cioè con le *basi organiche*.

Sono dette basi perché reagiscono, anche se debolmente, in modo basico, cioè alcalino, un po' come la lisciva di soda, e formano perciò con gli acidi dei sali. La loro costituzione chimica è da tempo nota, ma a noi non occorre conoscerla con esattezza. È sufficiente sapere che una metà appartiene ad un gruppo di sostanze dette *pirimidine*, il cui scheletro fondamentale è un esagono:



L'altra metà appartiene alle *purine*, nelle quali, all'anello pirimidinico delle precedenti, si aggiunge un pentagono:



Consideriamo dapprima il DNA. Esso contiene due purine denominate *adenina* (A) e *guanina* (G), e due pirimidine, la *citocina* (C) e la *timina* (T).

Nell'RNA ritroviamo tre di queste basi, e precisamente l'adenina, la guanina e la citocina, mentre al posto della pirimidina timina compare la pirimidina *uracile* (U), cosicché, in totale, vi sono 5 basi a disposizione, che si associano a quattro alla volta. Qui risiede già il principio su cui sono costruiti gli acidi nucleinici: il DNA consiste di desossiribonucleotidi sistemati in fila, ciascuno con una delle quattro basi adenina, guanina, citosina, timina; l'RNA di una successione di ribonucleotidi, ciascuno con una delle quattro basi adenina, guanina, citosi-

parte di questo libro le è dedicata. Nei prossimi paragrafi e capitoli cercheremo di discuterne le conseguenze. Per meglio comprenderle dobbiamo però ancora approfondire la conoscenza di queste terne.

Si raggiunge il numero massimo di 64 diverse terne soltanto se si leggono le successioni dei nucleotidi, o delle basi, nell'ambito di una terna, sempre e solo in una direzione, come nel caso dei numeri telefonici. Queste sequenze di nucleotidi si potrebbero rappresentare graficamente, ma il metodo non è abbastanza chiaro. Preferiamo perciò servirci del fatto che, nell'ambito del DNA o dell'RNA, i mononucleotidi si distinguono unicamente per le loro basi, mentre, sempre nel rispettivo gruppo di acidi nucleinici, hanno lo stesso zucchero (glicide) e lo stesso acido fosforico. Per indicare la diversità dei singoli mononucleotidi è perciò sufficiente segnalare la loro base o, più semplicemente, come abbreviazione, la prima lettera del nome.

Nell'RNA si avranno:

nucleotide con adenina = A
nucleotide con citosina = C
nucleotide con guanina = G
nucleotide con uracile = U,

e nel DNA:

nucleotide con adenina = A
nucleotide con citosina = C
nucleotide con guanina = G
nucleotide con timina = T

Alcune terne dell'RNA appaiono allora come:

G A U responsabile dell'aminoacido acido aspartico
G C U responsabile dell'aminoacido alanina
C C U responsabile dell'aminoacido prolina
U U U responsabile dell'aminoacido fenilalanina.

In un certo senso, G A U è la parola cifra, in codice, per acido aspartico; U U U per fenilalanina, eccetera. La sequenza delle ba-

si G A U - G C U - C C U - U U U... è perciò l'ordine scritto alla cellula, o meglio alla parte della cellula preposta alla formazione delle proteine, di mettere insieme una proteina che abbia al primo posto acido aspartico, al secondo alanina, al terzo prolina, al quarto fenilalanina, eccetera. Si può anche esprimere ciò in modo un po' meno perentorio: *la sequenza delle basi cela l'informazione per l'ordine da dare alla successione degli aminoacidi*, si tratta di una *fonte d'informazione*, ma nello stesso tempo anche del ricercato "negativo", della "matrice". La sequenza degli aminoacidi deriva come conseguenza dalla sequenza delle terne di nucleotidi.

Ogni terna è un segnale, un'unità di informazione, un segno del codice o, come si usa dire oggi, un *codone*; sequenza di codoni e sequenza di aminoacidi corrispondono, anzi sono persino "co-lineari".

Poco prima abbiamo scritto l'una accanto all'altra quattro terne (codoni), separate però da un trattino. Ciò non corrisponde alla realtà, poiché la distanza tra l'ultima base di una terna e la prima base della terna successiva non è maggiore di quella esistente tra due basi contigue di una stessa terna. Dovremmo perciò scrivere più correttamente:

G A U G C U C C U U U U ...

oppure:

G-A-U-G-C-U-C-C-U-U-U-U ...

Il dispositivo cellulare che deve costruire una proteina può capire l'informazione con esattezza (cioè decifrarla) se inizia dal primo mononucleotide, se interpreta i primi tre mononucleotidi come formanti un'unica terna, e se pone l'aminoacido corrispondente come primo termine della catena polipeptidica:

G-A-U-G-C-U-C-C-U-U-U-U

Guai quando il primo mononucleotide manca o viene ignorato. I codoni vengono allora letti nel modo seguente:

(G)-A-U-G-C-U-C-C-U-U-U-U

In questo modo gli aminoacidi inseriti diventano: al primo posto metionina, al secondo leucina, al terzo nuovamente leucina... e si stabilisce una sequenza errata, si ottiene come risultato una proteina sbagliata.

Inoltre il dispositivo produttore di proteine deve iniziare la lettura sempre dalla stessa parte e procedere nello stesso senso, qui da sinistra verso destra.

La sintesi della proteina-(enzima) si sviluppa secondo la successione dei codoni e termina con la fine della molecola di RNA, oppure quando un segno di interpunzione dice: « Fine della sintesi proteica! ». Per ora possiamo ancora fare a meno di questi segni di interpunzione; più tardi non sarà più possibile, quando tratteremo dei compiti del DNA. Se vi abbiamo accennato, è per un'altra ragione.

Delle 64 terne possibili, a rigore, dovremmo utilizzarne soltanto 20, e precisamente una per ciascuno dei 20 aminoacidi che possono far parte di una proteina. Che cosa avviene delle altre rimanenti 44 terne? Alcune certamente potrebbero servire come segni d'interpunzione; altre forse sono "senza significato" (in inglese *nonsense*), non trattandosi di parole in codice per aminoacidi. In tal caso, però, non dovrebbero comparire nel bel mezzo di una sequenza di codoni, perché si formerebbero delle lacune, dei posti vuoti nella sequenza degli aminoacidi. Ma con molta probabilità le cose stanno diversamente: il codice è "degenerato". Per ogni aminoacido non esiste solo un codone, che sarebbe la cosa più semplice, bensì ne esistono diversi (il lettore se ne sarà già accorto quando, nella lettura errata delle terne della sequenza (G) A U G C U C C U U U U, anche C U U fu considerato come responsabile della leucina e non solo, come in precedenza, C U C). Attualmente si è potuto stabilire che 61, e probabilmente 63 terne, sono utilizzate come codoni, le rimanenti 3 oppure 1 sono ancora "d'avanzo". La tabella a p. 38 indica lo stato attuale delle nostre conoscenze sulle

corrispondenze delle terne e relativi aminoacidi dell'RNA.

Prendiamo un esempio: per l'alanina esistono i quattro segni del codice AUC, GCU, GCC, GCG (ed eventualmente ancora GCA); ciascuno di questi codoni provoca l'inserimento di alanina nella catena polipeptidica. Questo sfoggio di mezzi — per l'alanina 4, ed eventualmente 5, codoni, dove ne sarebbe bastato uno — ci pare incomprensibile. Per ora ci limitiamo ad accettarlo. Nella cellula vengono sovente battute delle strade che lo sperimentatore, sia chimico, sia fisico, sia biologo, definirebbe semplicemente come giri viziosi. D'altra parte si è sovente constatato che questi giri viziosi non sono seguiti per desiderio di complicare le cose o per incapacità di scegliere la via più semplice. Queste vie sono percorse *necessariamente in un modo e non in un altro*, perché nella cellula vivente vigono regole differenti da quelle della provetta. Questo vale probabilmente anche per la degenerazione del codice, e da nuove ricerche si ricaveranno nuove spiegazioni.

D'altronde, per spiegare la necessità di vie che non siano le più semplici, si può pensare ad una telefonata al vicino di casa che, come tutti sanno, non avviene per filo diretto, ma passa dal centralino, al quale i due telefoni sono collegati. Il centralino talvolta è situato a distanza di chilometri, mentre la casa del vicino è a 20 metri, ma tutti riconosciamo che questo percorso indiretto è necessario.

Non si può nascondere che un codone, il cui significato è stato accertato in modo sperimentale, come ad esempio la corrispondenza tra U U U e fenilalanina, possa anche "incidentalmente" provocare l'incorporamento di un altro aminoacido. Non sembra tuttavia che ciò pregiudichi l'attendibilità del sistema di codificazione. È augurabile che anche questo fatto venga chiarito da future ricerche. Prima di proseguire, però, diamo uno sguardo in laboratorio per

← II posto →					
↓ I posto	U	C	A	G	III posto ↓
U	Fenilalanina	Serina	Tirosina	Cistina	U
	Fenilalanina	Serina	Tirosina	Cistina	C
	Leucina	Serina	● Leucina	?	A
	Leucina	Serina	● Leucina	Triptofano	G
C	Leucina	Prolina	Istidina	Arginina	U
	Leucina	Prolina	Istidina	Arginina	C
	Leucina	Prolina	Glutamina	Arginina	A
	Leucina?	Prolina	Glutamina	Arginina	G
A	Isoleucina	Treonina	Asparagina	Serina	U
	Alanina	Treonina	Asparagina	Serina	C
	Metionina	Treonina	Lisina	Arginina	A
	Metionina	Treonina	Lisina	Arginina	G
G	Valina	Alanina	Acido aspartico	Glicina	U
	Valina	Alanina	Acido aspartico	Glicina	C
	Valina	Alanina?	Acido glutamico	Glicina	A
	Valina	Alanina	Acido glutamico	Glicina	G

vedere come si imposta la sperimentazione che permette di decifrare il codice.

Informazione di prima mano

Riassumiamo in breve quanto si è detto finora sull'RNA e sulla sua funzione nella

sintesi proteica: è costituito da mononucleotidi; 3 mononucleotidi formano 1 terna = 1 unità di informazione = 1 codone; un codone dirige l'inserimento di un aminoacido ben preciso nella proteina; la successione dei codoni e quella degli aminoacidi sono colineari; l'RNA contiene perciò l'in-

formazione che stabilisce la sequenza degli aminoacidi, e tutto ciò in cifra, con un codice di 4 segni (i mononucleotidi), le cui combinazioni a tre a tre corrispondono ai segni codificati dei 20 aminoacidi.

Con quanto precede si può tratteggiare in un quadro assai semplice il meccanismo della sintesi proteica. L'RNA è la fonte prima dell'informazione; una catena distesa di RNA con 146 codoni, per esempio (il numero si riferisce all'emoglobina), fissa i corrispondenti 146 aminoacidi che per caso o per una forma di canalizzazione sfiorano la sua superficie. Gli aminoacidi vengono uniti fra di loro da legami peptidici, ed infine la proteina completata, ormai codificata, si stacca dalla matrice. Subito dopo la proteina si piega, come prescritto dalla sua struttura, ed ecco formato un apo-enzima. Questa immagine, però, è tutt'altro che esatta; la realtà, che cercheremo di avvicinare a gradi, è molto più complessa.

Il primo passo è relativamente semplice e solo gradualmente, in seguito, capiremo le sue imprevedibili conseguenze. Esso consiste nel fatto che le *informazioni contenute nell'RNA sono di seconda mano*. La vera fonte originale d'informazione *non* è l'RNA ma il DNA, e questa vera e propria fonte d'informazione è un'*informazione genetica* (che perciò è in relazione con i *geni*; così tocchiamo per la prima volta il campo dell'ereditarietà, che tratteremo poi nel secondo capitolo). Ci troviamo così nuovamente di fronte al problema della trasmissione dell'informazione, questa volta della trasmissione dal DNA all'RNA. Ciò che è semplice da risolvere per la tecnica delle informazioni non dovrebbe essere molto difficile neanche per la cellula. In realtà il funzionamento è tanto semplice quanto sbalorditivo, evidentemente per chi ha già superato cose comuni come l'alfabeto Morse, il telefono e la televisione e si è orientato verso la dimensione molecolare.

Trasmissione d'informazione: il principio di complementarità

Alla base della trasmissione dell'informazione è un principio molto più semplice del termine "principio di complementarità". Le 4 basi, che già conosciamo come costituenti del DNA e dell'RNA, si contrappongono a coppie sempre nello stesso modo: nel DNA, adenina con timina e citosina con guanina; nell'RNA, adenina con uracile e citosina con guanina. (Ritornando alle formule di p. 34, si può riconoscere che ogni volta ad una pirimidina corrisponde una purina.) Ciascuna delle 4 basi possiede perciò una "base complementare", all'incirca come ad un colore corrisponde un altro colore complementare: il verde al rosso, oppure il blu (eventualmente il viola) al giallo (e viceversa). Usando le note abbreviazioni, si può compilare la lista seguente:

DNA	A . . . T	RNA	A . . . U
	C . . . G		C . . . G
	G . . . C		G . . . C
	T . . . A		U . . . A

In realtà sono evidentemente i nucleotidi che si appaiano per mezzo delle loro basi. Limitiamoci per ora all'RNA ed ai suoi nucleotidi, raggruppati in terne = codoni. Per ogni codone esiste una terna complementare:

per il codone GAU che inserisce l'acido aspartico, CUA,

per il codone GCU che inserisce l'alanina, CGA eccetera.

Per maggior chiarezza e per esprimere il carattere di "contrapposto" di queste terne complementari, è stato per esse coniato il termine di *anticodoni*. Perciò ad una molecola di RNA, costituita da 146 codoni (come è necessario per esempio ad una catena di emoglobina contenente 146 aminoacidi), possono contrapporsi 146 anticodoni, altrettanto inconfondibili quanto i relativi codoni. Nel caso dell'RNA gli anticodoni *non*

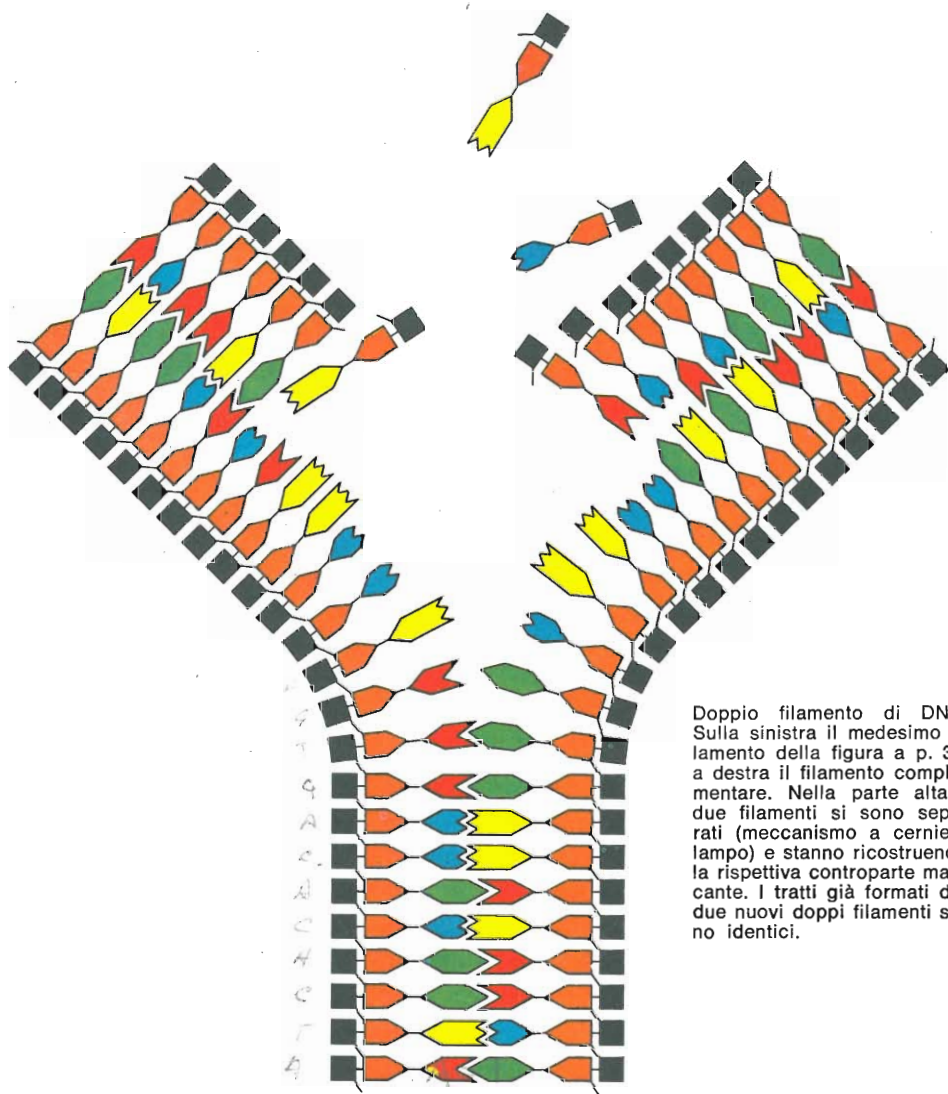
si uniscono in un anti-RNA. È sufficiente che gli anticodoni si affianchino nella successione ("anti-") specifica desiderata. (Più avanti vedremo che gli anticodoni portano gli aminoacidi corrispondenti ai codoni, e che sono questi aminoacidi ad unirsi tra di loro.) Col DNA le cose stanno diversamente: anche qui per ogni terna esiste una "anti-terna" complementare. Il fatto che le terne del DNA non siano anch'esse denominate codoni, bensì *codogeni* (dal greco: *generatori di codoni*) potrebbe confondere le idee; ne vedremo però subito la ragione. Le anti-terne si dispongono una accanto all'altra, come nel caso dell'RNA, nella sequenza prescritta dalle terne, con la differenza che si uniscono tra di loro per formare una seconda *molecola di DNA complementare* esattamente della stessa lunghezza della prima. Queste due molecole di DNA possono rimanere a lungo insieme: la molecola di DNA si presenta quasi sempre come una *doppia molecola* o sistema a due filamenti. I due filamenti sono fra di loro complementari, in un certo senso come le due metà di una cerniera lampo chiusa. L'esempio della cerniera lampo non è scelto a caso: la si può aprire, ed allo stesso modo si possono separare i due filamenti di DNA. Ciascuna delle due metà ha la possibilità, in presenza di un quantitativo sufficiente di nucleotidi e di determinati enzimi, di ricostituirsì la metà mancante. Tutto procede nuovamente secondo il principio di complementarietà, ed a operazione ultimata ci troviamo in presenza di due coppie di filamenti, in cui ogni loro filamento ha la stessa successione di terne del filamento corrispondente dell'altra coppia. Possiamo rappresentarci le cose nel modo seguente: ammettiamo di iniziare con una molecola semplice di DNA indicata con X. Essa si costruisce il suo filamento complementare Y rimanendovi unita e formando il doppio filamento XY. La cerniera lampo è chiusa. Quando la cerniera lampo si apre, X ed Y si separano. In seguito X si completa con

un filamento complementare Y ricostituendo XY, mentre Y da parte sua riforma il rispettivo filamento complementare X e ricostituisce anch'esso XY; i doppi filamenti XY sono diventati due.

La figura a p. 41 rende visivo questo procedimento. Qui la parte inferiore della cerniera lampo non si è ancora divisa, mentre in alto, sia a destra sia a sinistra, stanno ricostituendosi i filamenti complementari. Si constata facilmente che i due "nuovi" doppi filamenti sono identici fra di loro ed identici al doppio filamento iniziale. Si è ottenuto un esatto raddoppiamento, una "identica duplicazione" ("replicazione") del DNA. Ma siccome il DNA contiene "l'informazione genetica", quest'ultima ora si trova riportata in due identici doppi filamenti. Qualora la cellula dovesse dividersi, le due cellule figlie otterrebbero un doppio filamento, contenendo così non soltanto entrambe una medesima informazione, ma anche la medesima informazione della cellula madre. Senza accorgercene siamo nuovamente penetrati nel campo dell'ereditarietà, anzi siamo giunti al suo soggetto principale, ai geni, ma ancora una volta ci ritiriamo dall'argomento. Perché, pur intendendo vedere come l'informazione viene trasmessa, ci eravamo però chiesti in particolare come si effettua l'informazione necessaria alla sintesi proteica e come si trasmette dalla fonte primigenia alla fonte d'informazione di seconda mano quale è rappresentata dall'RNA.

Ora la possibilità di appaiamento, così come avviene tra nucleotidi nell'ambito del DNA e tra nucleotidi in quello dell'RNA, esiste anche tra nucleotidi del DNA da una parte e dell'RNA dall'altra. Questo "imbastardimento" o "ibridazione" è un meccanismo importantissimo nella trafila che va dall'informazione genetica alla sequenza degli aminoacidi.

Le 4 basi, o rispettivi mononucleotidi, del DNA, e cioè ACGT, possono appaiarsi con



Doppio filamento di DNA. Sulla sinistra il medesimo filamento della figura a p. 35, a destra il filamento complementare. Nella parte alta i due filamenti si sono separati (meccanismo a cerniera lampo) e stanno ricostruendo la rispettiva controparte mancante. I tratti già formati dei due nuovi doppi filamenti sono identici.

le 4 basi dell'RNA, e cioè ACGU, nei modi seguenti:

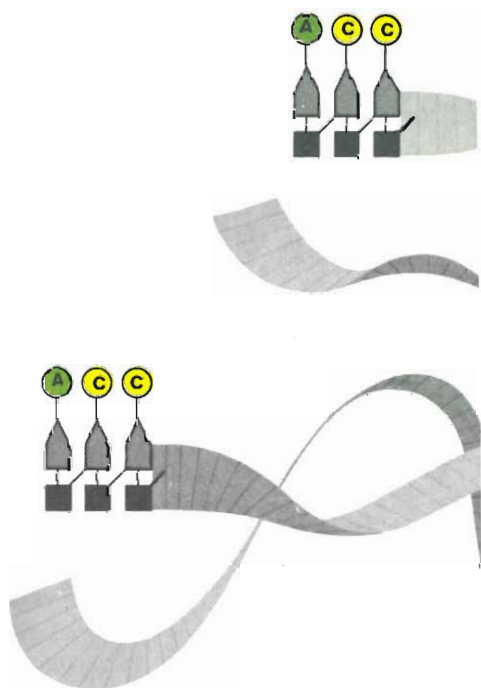
DNA	RNA
A . . .	U
C . . .	G
G . . .	C
T . . .	A

Ad ogni terna del DNA aderisce di conseguenza una terna complementare di ribo-

nucleotidi. Le terne dell'RNA sono state dette codoni, ed abbiamo riconosciuto che la sequenza dei codoni costituisce l'informazione per la sequenza degli aminoacidi nelle proteine, anche se si tratta di un'informazione di seconda mano. L'informazione di prima mano sta invece incisa in una successione di codogeni nel DNA. Quest'ultimo è, in un certo senso, lo stampo positivo. Sullo stampo positivo vengono poi ad alli-

nearsi ed a riunirsi direttamente in catena i codoni complementari dell'RNA. La sequenza dei codoni, rappresentati dalle loro basi complementari, forma evidentemente lo stampo negativo, che non è altro se non la ricercata *matrice*. Già sappiamo che su questo stampo negativo si fissano a loro volta altre terne complementari. Sono gli *anticodoni*, i quali però rimangono indipendenti uno accanto all'altro, e costituiscono nuove "impronte" dello stampo negativo (dei codoni), riformando così, per parte loro, uno stampo positivo.

Tutto può esser chiarito da un semplice schema (figura accanto). In alto si trova parte di un (unico) filamento di DNA portante due codogeni, le cui basi sono indicate da lettere. A destra, il filamento di RNA (RNA₁, "negativo") con i rispettivi codoni complementari; in basso a sinistra, gli anticodoni dell'RNA₂ ("positivo"), a loro volta complementari e contrapposti ai codoni dell'RNA₁. Si noti la corrispondenza delle lettere e della loro successione nel DNA e nell'RNA₂, tenendo conto però del fatto che alla timina T del DNA si sostituisce l'uracile U dell'RNA. Quanto avviene tra il DNA (a sinistra) e l'RNA (a destra) può dirsi una "trascrizione": da uno stampo positivo si forma un'impronta negativa. Ma è qualcosa di più che un semplice processo tecnico di stampa. Si tratta in questo caso di "carpire" un'informazione dalla fonte, dal DNA. L'informazione originale passa così come impronta negativa sull'RNA, le cui molecole sono considerevolmente più corte della catena del DNA.

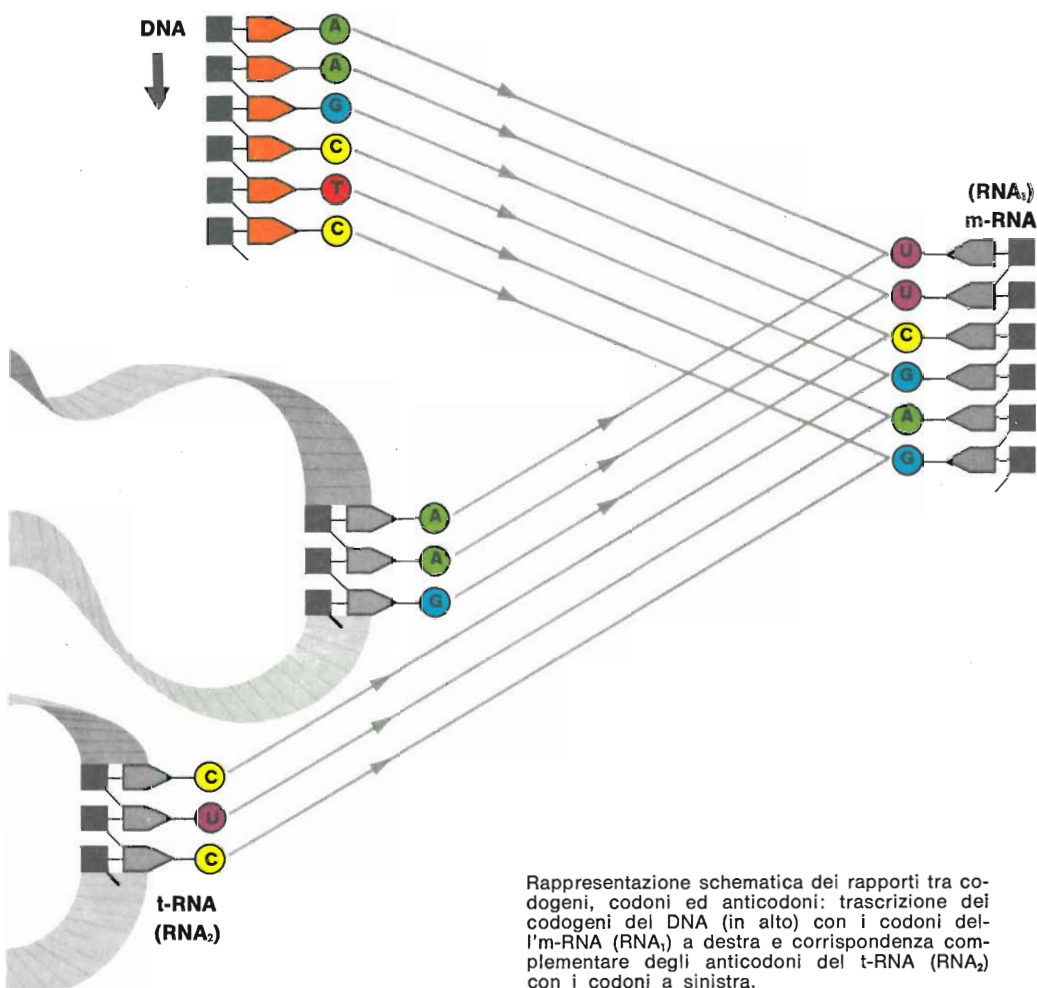


1.08 Messaggeri, cantieri e trasportatori

Tre tipi di acidi nucleinici per la produzione delle proteine

Esistono organismi, e lo vedremo meglio in seguito, nei quali l'informazione per tutte le proteine-enzimi (e possono essere centinaia)

sono contenute, una dopo l'altra, in un'unica catena di DNA costituita da decine di migliaia di terne. L' "informazione complessiva" non è raccolta in una volta sola, bensì a tratti. Ogni porzione corrisponde ad una proteina-enzima e contiene terne che vanno da uno a qualche centinaio: nell'emoglobina degli animali superiori (*vedi* p. 30) sono ad esempio 146. L'RNA che ne deriva,



RNA₁, è perciò molto più corto, non contenendo, nel caso dell'emoglobina, che 146 codoni. Questa molecola è perciò assai più mobile, può spostarsi all'interno della cellula e portarsi dalla fonte dell'informazione al luogo di sintesi della proteina. L'RNA₁ consegna così al cantiere delle proteine — anche di questo parleremo tra breve — l'informazione, l'ordine, affinché venga messa

in produzione una ben precisa proteina-enzima. Funge quasi da "messaggero" e, siccome fu scoperto in paesi di lingua inglese, oggi in tutto il mondo viene detto *messenger-RNA* o, abbreviato, *m-RNA*.

Riassumiamo quanto siamo finora riusciti a sapere sull'm-RNA: un'informazione, depositata nella successione dei codoni del DNA, viene raccolta e trascritta, mediante

l'appaiamento complementare delle basi, sull'm-RNA, e come tale, cioè sotto forma di un'impronta negativa, è portata dalla fonte d'informazione al luogo di sintesi delle proteine. Infatti la sintesi delle proteine, come è stato detto, *non* avviene in corrispondenza della fonte delle informazioni DNA. D'altra parte non avviene neppure direttamente sull'm-RNA: sarebbe stato troppo semplice, come si è già potuto constatare. Ma dove risiede allora il cantiere delle proteine, dove è decifrata, utilizzata, "tradotta" nella sequenza degli aminoacidi questa informazione trasmessa dai messaggeri?

In una cellula esistono diversi cantieri di proteine, e, come si può supporre, per lo più al di fuori del nucleo, nel *citoplasma*. Considereremo per ora solo quelli citoplasmatici. In questo caso non si tratta solo di legami chimici, che, in quanto tali, ci sono noti. Le proteine vengono sintetizzate da particelle granulari. Sono invero troppo piccole per poter essere osservate al microscopio normale, però, col microscopio elettronico, su una sezione di cellula, si possono rintracciare senza difficoltà. Sono quasi di forma sferica, con un diametro di circa 200 Å (che cosa sia l'unità Ångström vedremo esattamente a p. 138).

Talvolta questi granuli sono distribuiti irregolarmente in tutto il citoplasma, altre volte sono invece allineati a collana dalle due parti di particolari strati del citoplasma. Nel capitolo *Scrutiamo la cellula* se ne parlerà di frequente. Ma rinunciamo ancora alle immagini del microscopio elettronico. Per il momento possiamo tagliuzzare le cellule con lame ad alta velocità di rotazione, o stritolarle scuotendole molto rapidamente con minutissime perle di vetro, oppure ancora distruggerle con ultrasuoni, ed otterremo in ogni caso un miscuglio di tutti i componenti cellulari, comprese le particelle che fabbricano le proteine, otterremo cioè un cosiddetto *omogeneizzato*. Questo è un "sistema privo di cellule", oppure "non cellulare".

Qui i vari componenti cellulari sono distribuiti in modo uniforme, e si è perso il primitivo ordine che esisteva nella cellula. Se si esamina un omogeneizzato dal punto di vista del ricambio cellulare, esso non è proprio "morto", poiché tra i suoi vari componenti avvengono le più disparate reazioni, che però non sono più né ordinate né controllate. È anche difficile sovente poter dire se tali trasformazioni di sostanze nella cellula intatta non avvengano, qualora siano possibili, in tutt'altro modo o non avvengano affatto, poiché con la mescolanza vengono a contatto parti della cellula in origine molto distanziate o isolate da strati impermeabili.

Quando si vogliono imitare certe reazioni, così come avvengono nella cellula, al di fuori di questa, in provetta (in vitro), si devono separare i componenti cellulari, isolarli e possibilmente purificarli da inquinamenti indesiderati. Ciò è abbastanza facile, dato che i frammenti della cellula hanno dimensioni e pesi diversi. Con le centrifughe moderne si possono successivamente separare i vari componenti di un omogeneizzato: a basso numero di giri, in un primo tempo, le parti più grossolane sono scagliate verso l'esterno, come frammenti di membrana o cellule non completamente disfatte, che formano uno strato, un sedimento, sul fondo della provetta della centrifuga, mentre tutti gli altri componenti rimangono sospesi nel liquido sovrastante. Con l'aumento progressivo del numero dei giri, si riesce a scomporre, a frazionare tutto l'omogeneizzato in numerose porzioni. Le singole frazioni possono già essere in gran misura omogenee, cioè contenere un solo tipo di componente cellulare, ad esempio nuclei. Se così non è, bisogna raffinare ancor più la centrifugazione. Ciò diventa particolarmente necessario quando si vogliono separare particelle piccole o molto piccole. A tale scopo si usano le *ultracentrifughe*, che sviluppano una altissima forza centrifuga, fino a 200.000 volte l'accelera-

zione di gravità (g), con 300.000 giri al minuto!

Una di queste frazioni contiene anche, in quantità ed abbastanza puri, quei granuli che abbiamo considerato i cantieri delle proteine. Come si possa da questi ottenere la sintesi proteica anche al di fuori della cellula, in un sistema privo di cellule, si vedrà nel prossimo paragrafo: vediamo prima in che cosa consistano queste particelle. La loro analisi chimica non presenta difficoltà, visto che se ne possono isolare forti quantità. Ne risulta che sono costituite all'incirca per una metà da proteine e per l'altra da RNA; le proporzioni variano circa da 40 a 60. Per questa volta non occorre quindi conoscere "chimicamente" altre classi di sostanze.

Ribosomi

Queste particelle furono battezzate *ribosomi* per il loro contenuto di RNA. Il loro componente nucleinico dicesi RNA-ribosomico, o semplicemente r-RNA. È la seconda specie di RNA che incontriamo, dopo l'm-RNA. In unione con le relative proteine (da 60 a 40 %), il suo peso molecolare è di circa 6 milioni, cioè dell'ordine di grandezza delle maggiori proteine e del DNA. È sorprendente il fatto che questo peso molecolare di 6 milioni sia molto costante, e non variabile come quello delle proteine, i cui valori scendono da 5 milioni fino a 6.000.

Tuttavia si ottiene il peso massimo di 6 milioni solo se il liquido, il mezzo, in cui si trovano i ribosomi, contiene notevoli quantità di ioni magnesio. A contenuto calante di magnesio, si registrano pesi molecolari inferiori, e cioè all'incirca da 3,2 ad 1 milione. In tal caso i ribosomi si disgregano probabilmente in frammenti più piccoli.

A dire il vero, non sempre si è determinato il peso molecolare con i metodi classici; ciò avrebbe richiesto molto lavoro. Le "dimensioni" dei ribosomi si possono definire

molto più semplicemente con la cosiddetta "costante di sedimentazione", che è la misura, non facile da calcolare, della velocità di sedimentazione di particelle nella ultracentrifuga. Quanto più grandi (pesanti) sono le particelle, tanto più rapidamente affondano. La costante di sedimentazione si esprime con S, cioè in unità Svedberg, da Svedberg che pose le basi scientifiche dell'ultracentrifugazione, e promosse la costruzione delle prime ultracentrifughe.

I ribosomi interi, quelli con peso molecolare di 6 milioni, sono ribosomi da 100-S (100 unità Svedberg). I loro frammenti sono da 70-S, 50-S, e 30-S. È interessante notare che un ribosoma da 100-S può scomporsi in due da 70 unità S, e ciascuno di questi ulteriormente in due frammenti da 50-S e da 30-S (le unità Svedberg non si addizionano quindi come i pesi atomici!).

Con aggiunte progressive di ioni magnesio possono ricomporsi dei ribosomi completi. Così facendo si è constatato che, sia le particelle da 100-S sia quelle da 70-S, come pure quelle da 50-S e da 30-S, sono in grado di sintetizzare delle proteine. Lo schema della figura a p. 46 vuole solo indicare dei rapporti di massa tra le diverse particelle, non la loro forma o la loro posizione reciproca, le quali finora non sono state chiarite sufficientemente. I risultati al microscopio elettronico sono ancora troppo ambigui; conviene soffermarsi su fotografie di una frazione da 70-S, distesa su di una sottile pellicola per l'osservazione col microscopio elettronico (figura a p. 47). I ribosomi sono rappresentati da corpiccioli quasi sferici, isolati oppure riuniti a gruppi. Se questo raggruppamento, o meglio ancora affiancamento, sia casuale o no, è una questione di cui ci occuperemo presto. (Si osservi, di passaggio, quanto "pulita" possa essere una frazione di ribosomi se accuratamente preparata: contiene effettivamente solo ribosomi, tutti gli altri componenti cellulari essendo stati eliminati.)

Aspetto e peso molecolare unitario distin-

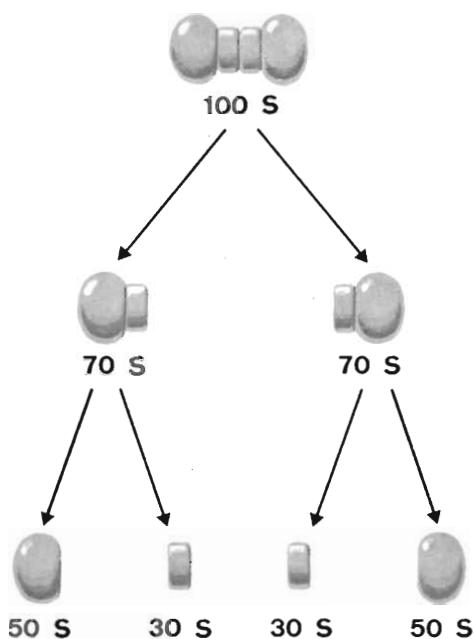
guono i ribosomi dalle proteine — variabili nella forma e nel peso molecolare — e lasciano supporre che non partecipino direttamente alla codificazione, o vi partecipino solo in minima parte. In realtà si ammette oggi che i ribosomi, per quanto concerne il loro componente di RNA e di proteine, siano particelle non specifiche. Ciò concorda bene con il fatto che in certi batteri solo una piccolissima parte dell'r-RNA, effettivamente solo dallo 0,1 allo 0,2 %, è complementare alla sequenza delle basi del DNA (sequenza dei codogeni). Secondo ogni apparenza, il compito dei ribosomi è quello di disporre sulla propria superficie l'm-RNA. Essi trattengono la molecola di m-RNA in posizione distesa, in modo che i codoni dell'm-RNA risultino regolarmente disposti uno accanto all'altro (paralleli). Solo in queste condizioni l'm-RNA può svolgere

la sua funzione di matrice; infatti, quando è libero in soluzione acquosa (nei sistemi privi di cellule) o nel citoplasma (della cellula), esso è probabilmente raggomitolato ad un punto tale da rendere persino inaccessibili alcuni suoi codoni.

L'ora degli anticodoni

Sui codoni allineati dell'm-RNA non si sistemano direttamente gli aminoacidi corrispondenti, ma gli anticodoni appropriati. Questi in precedenza avevano già catturato l'aminoacido adatto, attingendolo dalla riserva di aminoacidi prodotta dalla cellula, e, così caricati, si dirigevano verso la superficie dei ribosomi. Questi RNA fungono perciò da trasportatori e sono detti RNA di *trasferimento* (dall'inglese *transfer-RNA*), oppure più semplicemente t-RNA (un tempo furono anche detti RNA solubili, o s-RNA, perché la loro molecola è relativamente piccola e rimane in soluzione, quando con trattamenti chimici si fanno precipitare il DNA e l'm-RNA). Questo è il terzo ed ultimo tipo di RNA che nomineremo:

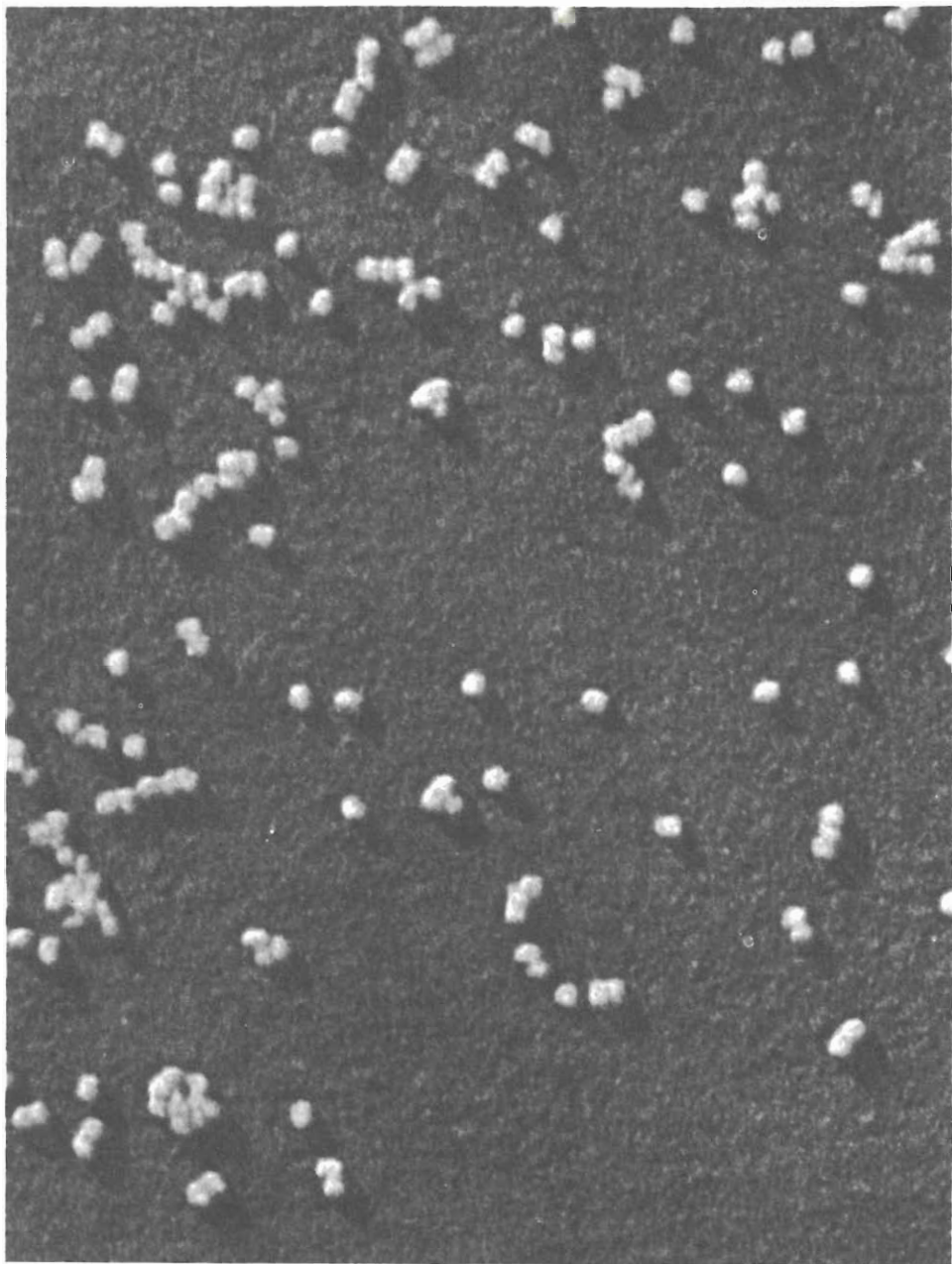
m-RNA, r-RNA, t-RNA.



Scomposizione dei ribosomi da 100-S in 2 sotto-unità (da 70-S) e, poi, in 4 da 50-S e 30-S.

Naturalmente le molecole di t-RNA non sono così piccole da esser solo costituite da un anticodone con il rispettivo aminoacido. Le cose sono assai più complesse. Le molecole di t-RNA — che devono esistere almeno in 20, probabilmente in 61 e forse in 64 edizioni (corrispondenti al codice degli aminoacidi) — sono formate da circa 80 nucleotidi collegati a catena. In una sola cosa queste varie molecole si rassomigliano: ad un'estremità figura sempre la terna CCA, alla quale si fissa l'aminoacido. S'intende che in qualche punto della catena deve esistere l'anticodone attivo e specifico per l'aminoacido in questione.

Fino a poco tempo fa non si conosceva



Frazione purificata di ribosomi da 70-S in un'immagine al microscopio elettronico. Ingrandimento a 150.000 volte.

molto di più sulla *struttura* del t-RNA. Per contro, sperimentalmente, la sua *funzione* era stata chiarita a sufficienza. Una molecola di t-RNA (n. 1) cerca tra gli aminoacidi presenti l'aminoacido (n. 1) adatto al suo anticodone, che viene fissato all'estremità CCA della molecola stessa (sorvoliamo per ora sul fatto che per ottenere questo legame è necessario un apporto di energia). Così caricata, la molecola di t-RNA migra verso il ribosoma, cerca sulla molecola di m-RNA ivi distesa il codone n. 1 corrispondente al proprio anticodone n. 1 (principio di complementarità), e lì si ferma. Subito dopo, sul codone affiancato n. 2, si depone una molecola di t-RNA col suo anticodone n. 2; anche questa porta alla sua estremità CCA un aminoacido, evidentemente diverso dal primo, e adatto all'anticodone n. 2. Questi due aminoacidi (n. 1 e n. 2) si trovano così affiancati, e tra di loro si forma un legame peptidico, come abbiamo visto a p. 24. Il primo t-RNA ha compiuto la sua missione, si libera del ribosoma, e può ricominciare daccapo a caricarsi con un'altra molecola dello stesso aminoacido. Nel frattempo una terza molecola di t-RNA con l'anticodone n. 3 e carica di un aminoacido n. 3 giunge al codone n. 3 dell'm-RNA, provocando così la formazione del legame peptidico tra l'aminoacido n. 2 e l'aminoacido n. 3.

In tal modo, la catena polipeptidica, iniziata da un capo, si allunga progressivamente, finché viene occupato, e poi abbandonato, l'ultimo codone. Si è così tracciato a grandi linee l'ultimo passo della sintesi proteica, cioè la "*traduzione*" (detta anche "adattamento"). La formazione di una proteina può essere rappresentata schematicamente, insieme al primo passo, quello della trascrizione, con la figura a p. 49.

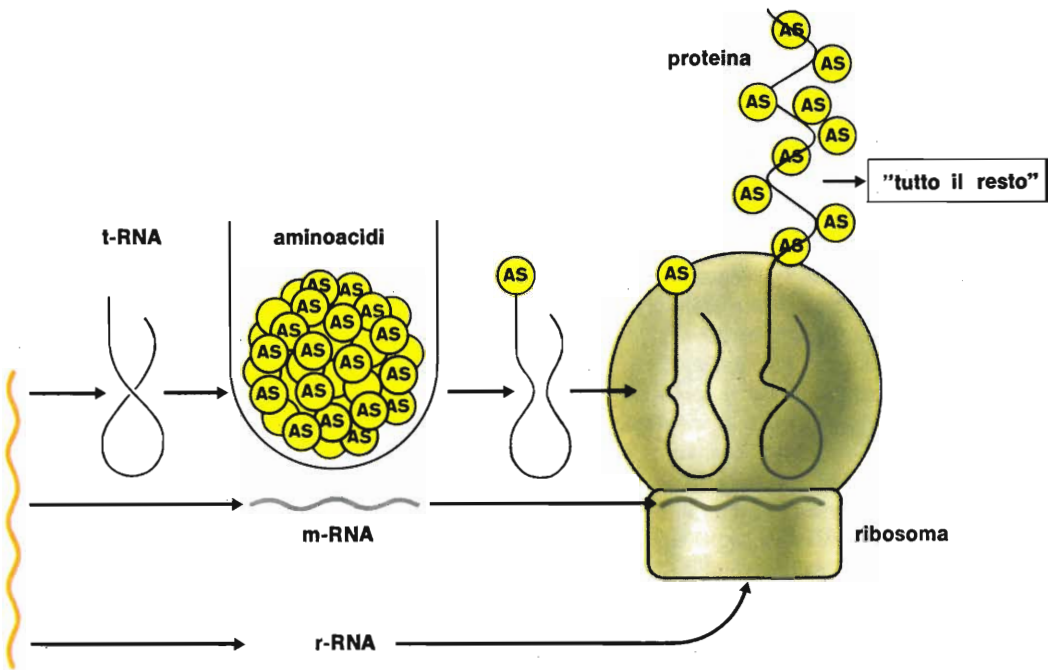
Questo schema, per quanto possa sembrare appropriato, presenta ancora punti oscuri nei suoi particolari. Così, i pochi dati che conosciamo sulla struttura del t-RNA non sono sufficienti a spiegarci la sua funzione.

L'esperimento ci dice come il t-RNA si comporta effettivamente, ma chimicamente non si sa ancora perché funzioni in un modo piuttosto che in un altro. Altri punti oscuri sono: che cosa succede realmente alla superficie del ribosoma? Qual è il destino dell'm-RNA e del t-RNA, quando hanno svolto il loro compito?

Il lettore nel frattempo si sarà accorto che i processi di sintesi proteica non presentano unicamente un interesse accademico. Quale esattezza occorre nella trascrizione e traduzione, se vogliamo che tutto, nella cellula vivente, sia regolato con la precisione cui siamo abituati! Un solo errore di trascrizione e poi di traduzione può avere conseguenze durature: se viene iscritto un aminoacido sbagliato, ne deriva una proteina sbagliata, un (apo)-enzima sbagliato, che a sua volta avvia una reazione sbagliata del ricambio. E potremo forse sostituire nella cellula un m-RNA con un altro artificiale, quando il chimico riuscirà a produrlo, inducendola così a fabbricare enzimi secondo il desiderio dello sperimentatore? Potremo fra poco ottenere dei geni artificiali?

Nel prossimo capitolo approfondiremo questo argomento; cerchiamo per ora di rispondere agli interrogativi che ci siamo posti. Riprendiamo in considerazione il t-RNA. Negli ultimi tempi si sono fatti notevoli progressi. Un gruppo di ricercatori americani, facenti capo al dott. Holley, riuscì a determinare la sequenza completa dei nucleotidi (struttura primaria) di un t-RNA, e precisamente di un t-RNA al quale si attacca l'aminoacido alanina. La sua struttura secondaria può essere rappresentata con una figura schematica, che a prima vista sembra che confonda le idee più che chiarirle (figura a p. 50).

La molecola sembra costituita da due metà, l'una accostata all'altra; però non si è formato un vero "doppio filamento", dato che un effettivo appaiamento delle basi (che, beninteso, può verificarsi anche tra basi



Schema della fabbricazione di una proteina. Dal DNA derivano tre specie di RNA: l'r-RNA forma i ribosomi, l'm-RNA trasporta l'informazione sui ribosomi e il t-RNA con gli aminoacidi (AS) prelevati dalla riserva esistente nella cellula, si ad-

dossa all'm-RNA nel ribosoma. Con la formazione di legami peptidici tra i vari aminoacidi che vengono forniti, si producono delle proteine: enzimi specifiche che costruiranno "tutto il resto" che serve alla cellula.

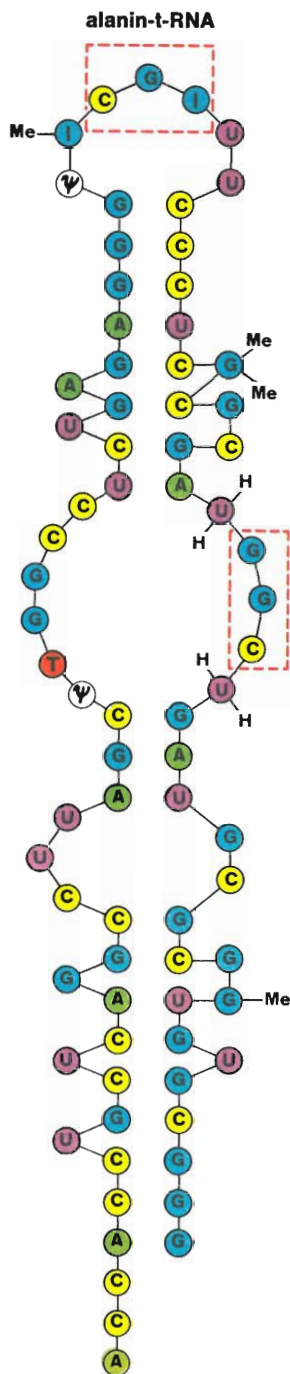
complementari di una stessa catena) è solo possibile su brevi tratti, perché si intercalano più o meno grosse "vesciche", che si formano quando le basi che stanno l'una di fronte all'altra *non* sono complementari. Inoltre in questa catena notiamo nuove lettere: I, ψ (psi), Me, DiHU. Si tratta per lo più di basi solo leggermente modificate, strettamente imparentate e forse intercambiabili con quelle che già conosciamo. DiHU ad esempio non è altro che un uracile con due atomi di idrogeno in più. Anche Me non esce dalla cerchia; si tratta di una molecola con un gruppo metilico supplementare. Infine va detto che nella figura a p. 50 è rappresentata solo *una* di tre possibili configurazioni.

Spiccano a colori diversamente combinati la terna terminale CCA ed il gruppo specifico di riconoscimento, l'anticodone GGC, che è il complementare del codone GCC e va letto in direzione contraria. I ricercatori americani sono più cauti e pensano che come terna codificata funzioni la sequenza molto simile IGC (in alto nella figura). In un modo come nell'altro, l'anticodone risiede effettivamente *nel mezzo della catena*, e non all'estremità dirimpetto alla terna CCA. Come un anticodone, situato nel mezzo della catena, possa influire sul CCA terminale — che troviamo in *tutte* le molecole di t-RNA — facendogli captare alanina, e non un altro aminoacido, rimane una questione ancora senza risposta. E vi sono

tante altre cose discutibili. Ma ci troviamo, per così dire, nel laboratorio stesso di ricerca, in prima linea, come dimostrano i molti "forse", "probabilmente", "possibilmente".

A questo punto non possiamo fare a meno di dichiarare la nostra ammirazione per il lavoro scientifico che ci ha condotti a questa formula di struttura, che si prospetta fin d'ora carica di conseguenze per il futuro. Tanto più che si tratta della prima molecola di acido nucleinico di cui sia stata scoperta la sequenza dei nucleotidi.

(Dal momento in cui è stato scritto questo paragrafo due gruppi di ricercatori, uno tedesco — professor Zachau e collaboratori di Colonia — l'altro americano — dottor Madison e collaboratori di Ithaca — sono riusciti a chiarire la sequenza dei nucleotidi di altre due molecole di t-RNA, e precisamente una specifica per la serina, l'altra per la tirosina. Anche in questi casi compaiono gli stessi nucleotidi "anomali" come I, DiHU, ecc., che sono per giunta situati sulla catena in posizioni corrispondenti. Queste tre molecole si rassomigliano anche in modo sorprendente nella loro forma — intendiamo qui la loro struttura secondaria —, solo che alla molecola di t-RNA dell'alanina non si deve attribuire la forma a nastro, ma quella a trifoglio, come già aveva proposto il gruppo capeggiato da Holley. Se dovesse prossimamente risultare che anche tutti gli altri tipi di molecole t-RNA hanno il medesimo aspetto, dovremmo allora naturalmente sostituire nelle figure alle pp. 43, 49, 50, 53 i nastri con trifogli.) La formazione del legame tra quegli aminoacidi che vengono a trovarsi alle estremità CCA delle molecole di t-RNA non presenta particolari difficoltà di interpretazione; tutto



Aspetto di un t-RNA specifico per l'alanina; su alcuni tratti si è stabilito l'appaiamento delle basi. Inquadrati in rosso "gruppi specifici di riconoscimento" (anticodoni).

avviene, e non si sarebbe potuto immaginare in modo diverso, per via enzimatica. Gli enzimi occorrenti sono evidentemente in quantità sufficienti nelle vicinanze dei ribosomi.

Al contrario, non si sa ancora esattamente che cosa avvenga alla superficie del ribosoma, nel punto dove codone ed anticodone si incontrano. Certo è che in nessun caso una molecola di m-RNA giace sulla superficie del ribosoma per tutta la sua lunghezza. La figura a p. 52 indica con sufficiente esattezza le proporzioni di grandezza del ribosoma e della molecola di RNA messaggero, e mostra altrettanto bene che la loro congiunzione avviene solo su di un piccolo tratto. Allo stadio attuale delle nostre conoscenze dobbiamo ammettere che soltanto due codoni in tutto possono essere impegnati contemporaneamente. Per questo sono previsti due posti affiancati. Essi non possiedono gruppi di riconoscimento specifici (ricordiamo che solo una parte irrilevante dell'RNA ribosomico si presenta con terne specifiche), ed inoltre la loro natura è tuttora sconosciuta.

Appena questi posti sono stati occupati da due codoni vicini dell'RNA messaggero, due molecole dell'RNA di trasferimento, cariche dei loro aminoacidi, vi si pongono di fronte con i loro anticodoni. Nello stesso istante avviene il congiungimento dei due aminoacidi. La molecola di t-RNA n. 1 si è ora liberata del suo aminoacido, e si distacca per andare a caricarsi con una nuova molecola di aminoacido. In quel momento la molecola m-RNA, il cui codone 1 risulta pur esso liberato, si sposta avanzando leggermente, di modo che il codone 2 si inserisce nel posto 1. Contemporaneamente il posto 2 è occupato dal codone 3, al quale si accoppia un anticodone complementare 3. Il dipeptide 1-2, che si unisce all'aminoacido 3 portato dal t-RNA₃, si prolunga nel tripeptide 1-2-3; viene così il turno del distacco del t-RNA₁, che lascia libero un posto, e permette alla molecola m-RNA di con-



alanin-t-RNA serin-t-RNA I+II tirosin-t-RNA

Forma a trifoglio di 3 diverse molecole di t-RNA.

tinuare il suo spostamento con un nuovo scatto.

Tutto ciò funziona quasi come una macchina da cucire. La molecola di m-RNA scorre, un passo dopo l'altro, sulla superficie del ribosoma, e con lo stesso ritmo si forma la catena del peptide. Quando il "filamento" dell'm-RNA spostandosi fino alla fine, fino all'ultimo codone, avrà attraversato i posti ad esso riservati alla superficie del ribosoma, allora tutte le parti costituenti un polipeptide nella sua struttura primaria risulteranno "cucite insieme". Altre somiglianze veramente non esistono con la macchina da cucire, perché il filamento di m-RNA non è confrontabile con un filo da cucire che mantenga riunite le varie parti (gli aminoacidi). Anzi, la sua durata è breve, e viene demolito rapidamente. Da parte sua la catena polipeptidica, con tutta probabilità, rimane annessa al ribosoma (macchina da cucire) fino al suo completamento, e se ne distacca solo in seguito, contorcendosi nelle strutture secondaria e terziaria, e riunendosi eventualmente ad altre catene per formare strutture quaternarie: solo allora l'enzima-proteina è ultimato.

Quanto abbiamo esposto minuziosamente si svolge nella cellula in modo perfettamente articolato, e non certo a ritmo lento. Calcoli approssimativi, effettuati da varie parti, forniscono dati sorprendenti: in un minuto possono formarsi circa 5.000-6.000 legami peptidici; per completare un enzima-proteina di



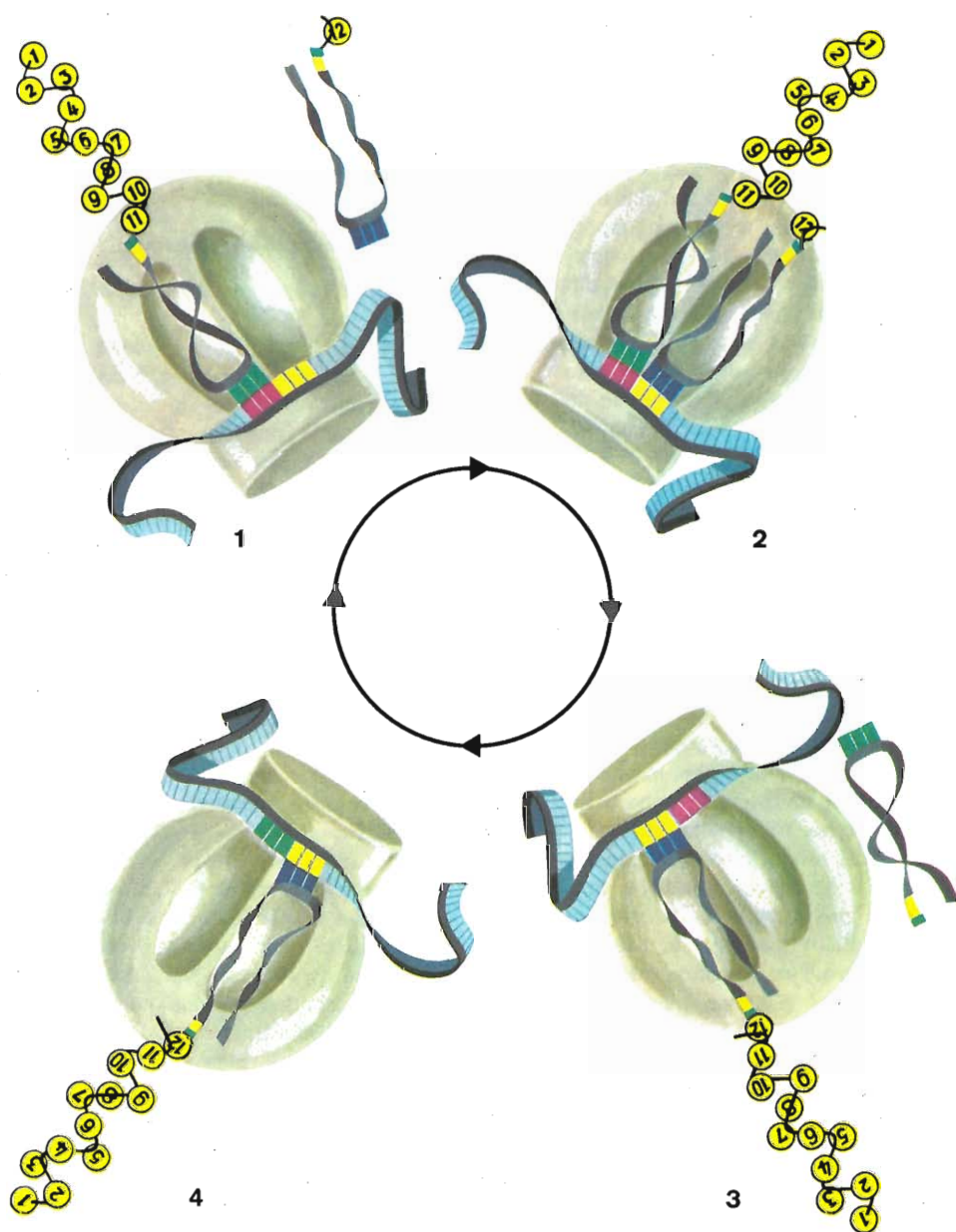
La molecola di m-RNA (blu) è attaccata al ribosoma solo per un piccolo tratto, probabilmente non più lungo di 2 codoni.

146 aminoacidi occorre perciò circa un secondo e mezzo! A livello molecolare tante cose avvengono molto più rapidamente di quanto si potrebbe pensare a priori. (Una delle ragioni risiede senza dubbio nel fatto che gli intervalli tra atomi e molecole sono enormemente minori delle distanze che separano le cose del nostro mondo macroscopico. Su tragitti così brevi sono possibili velocità molto più alte.)

I polisomi

La brevità della vita dell'm-RNA merita alcune considerazioni. Osserviamo che le proteine hanno un *semiperiodo* di circa due giorni. Il semiperiodo è un concetto ripreso dalla fisica, e quando si parla di semiperiodo di 2 giorni s'intende che nello spazio di 2 giorni la metà della quantità considerata (sia essa costituita da molecole, da atomi, da nuclei atomici o altro) è scomparsa, si è disintegrata o è stata demolita.

Ciò non significa però che in un tempo doppio del semiperiodo, cioè in questo caso in 4 giorni, tutta la scorta venga distrutta. Nei successivi 2 giorni scompare nuovamente la metà di quanto è rimasto, cioè un quarto della quantità iniziale. (Ad esempio l'uranio, secondo il suo isotopo — 235 o 238 — ha un semiperiodo rispettivamente di 710 milioni e di 4,5 miliardi di anni; quello del carbonio radioattivo C^{14} è di 5760 anni.) In confronto alle proteine, con il loro semiperiodo di circa due giorni, l'm-RNA ha effettivamente vita molto breve, dato che il suo semiperiodo è situato attorno ai 30 minuti (almeno nei batteri; nelle piante e negli animali superiori l'm-RNA vive più a lungo). Ma, considerato che il tempo occorrente alla fabbricazione di una molecola proteica è solo di un secondo e mezzo, viene da pensare che una molecola di RNA messaggero eserciti ripetutamente le sue funzioni di codificazione, che cioè partecipi alla sintesi di più molecole proteiche uguali. E così è infatti: una molecola messaggera, che è già passata per un certo tratto su



omposizione di un peptide con aminoacidi alla superficie del ribosoma, con il concorso di
- e t-RNA.

di un ribosoma, e che perciò ha la sua parte anteriore nuovamente libera, può subito inserirsi sui posti vuoti di un secondo ribosoma, e lì ricominciare la fabbricazione di un'altra identica catena polipeptidica. Anche il secondo ribosoma è presto superato, e così via. Il numero dei ribosomi che possono essere collegati contemporaneamente (e, alla lettera, transitoriamente) ad una stessa molecola messaggera dipende evidentemente dalla lunghezza della molecola stessa e dalla distanza — approssimativamente uguale — tra i vari ribosomi; su di una lunghezza media di circa 150 codoni, possono essere presenti circa 5-7 ribosomi. Per queste unità "fluente" di 1 molecola di m-RNA e di 5 ribosomi si è coniato il termine di *polisomi*. Si è riusciti ad osservarli al microscopio elettronico (vedi figura a p. 144). Probabilmente, alcuni degli ammassi che compaiono nell'immagine ricavata al microscopio elettronico di una frazione di ribosomi (figura a p. 47) sono proprio polisomi.

L'esistenza dei polisomi spiega forse un fatto ancora incomprensibile prima della loro scoperta, e cioè che, in una frazione purificata di ribosomi, in genere solo il 20 % circa, cioè 1/5, risulta attivo nella sintesi proteica. Infatti, in una sospensione di ribosomi e di molecole m-RNA, la probabilità che il primo tratto di messaggero, appena terminata la sua attività, ridiventato disponibile, trovi un secondo ribosoma cui agganciarsi è piuttosto piccola, dato che le distanze sono troppo forti. Nella cellula vivente, invece, abbiamo un grado elevato d'ordine; le distanze sono piccole, ed il messaggero può trovare molto rapidamente il secondo, terzo, quarto e quinto ribosoma: in queste condizioni viene coinvolta contemporaneamente l'attività del 100 % dei ribosomi.

Non è molto probabile che una molecola di m-RNA passi in tutto solo 5 ribosomi e venga poi demolita. La sua vita, dopo tutto, non è così breve! Si suppone che possa

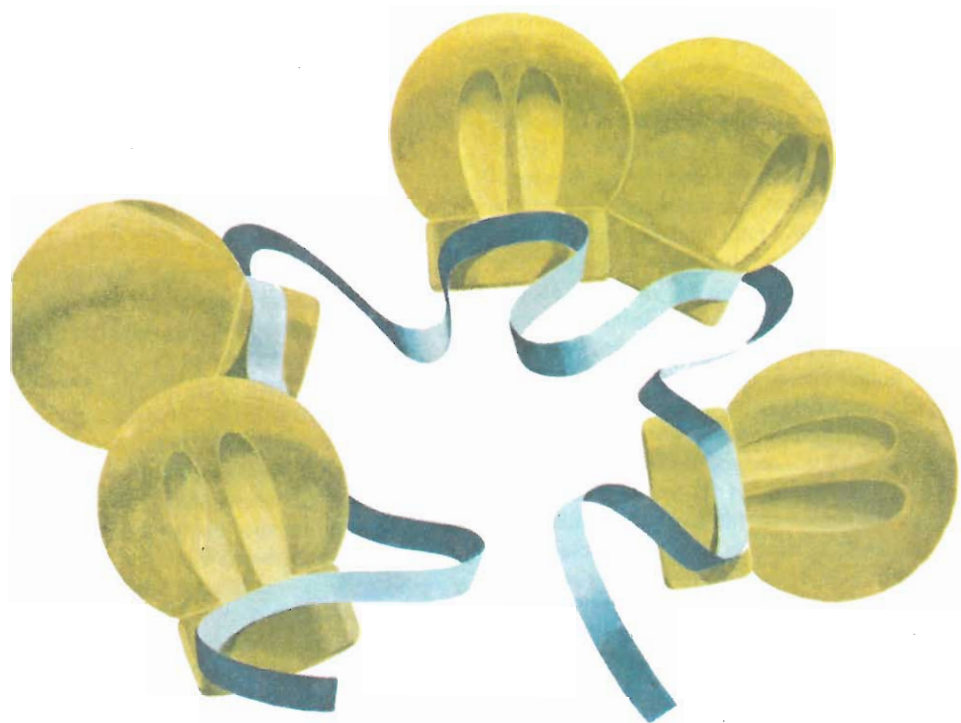
scorrere su 20, 30 ribosomi, e codificare così altrettante catene polipeptidiche identiche, prima di cadere in disfacimento (ma anche in questo caso non occupa mai contemporaneamente più di 5-7 ribosomi).

1.09 Un'occhiata in laboratorio

Come si eseguono questi esperimenti?

Anche se finora non lo abbiamo detto esplicitamente, dobbiamo considerare che le nostre conoscenze sul funzionamento della sintesi delle proteine derivano da esperimenti che i biochimici hanno eseguito fuori della cellula: è effettivamente possibile produrre proteine, o almeno composti simili alle proteine, in sistemi privi di cellule, in vitro. Ciò non significa ancora che si possano fabbricare proteine artificialmente ed a volontà. Il biochimico normalmente usa sostanze o particelle che non ha affatto prodotto egli stesso, ma che sono state estratte dalle cellule viventi. Tuttavia si intravede la possibilità di sostituire sempre più sostanze completamente sintetiche alle sostanze cellulari naturali. Un inizio in tal senso si è già verificato: si possono infatti introdurre in un sistema privo di cellule molecole artificiali di m-RNA, in sostituzione di quelle proprie della cellula, con queste codificare delle proteine.

Il lettore avrà notato in qualche articolo o giornale congetture sulle intenzioni di fabbricare prossimamente, se non proprio delle cellule artificiali, almeno delle proteine artificiali, e nessuno può dargli torto se questa possibilità di intervenire nella composizione della cellula vivente lo rende inquieto o forse addirittura lo spaventa. Forse possiamo dissipare questa preoccupazione, descrivendo come vengono eseguiti questi esperimenti, spiegando quali conclusioni siano giustificate, che cosa si possa ottenere e che cosa forse non si potrà mai ottenere. Proviamo.



Una molecola di m-RNA può scorrere contemporaneamente su 5 o più ribosomi. Simili complessi di ribosomi vengono detti polisomi.

Indispensabili alla sintesi sono naturalmente i tre tipi di acidi ribonucleinici: RNA messaggero, RNA ribosomico (o meglio ribosomi da 70-S), RNA di trasferimento, più una riserva sufficiente di tutti i 20 aminoacidi. Abbiamo visto da poco come ottenere una frazione purificata di ribosomi da un omogeneizzato cellulare: si utilizzano ultracentrifughe. Non è però tutto semplice come descritto a p. 44. Con un numero di giri di rotazione così alto, si produce un calore enorme; un tale riscaldamento altererebbe i ribosomi rendendoli inutilizzabili. Perciò queste ultracentrifughe vengono raffreddate in modo da non superare i $+5^{\circ}$. Logicamente, anche la prima tappa, quella della omogeneizzazione, avverrà alla stessa temperatura di 5° .

In seguito alla centrifugazione, i ribosomi sedimentano; nel liquido sovrastante rimangono tra l'altro anche m-RNA e t-RNA. Le molecole di m-RNA sono più grosse delle molecole di t-RNA; i messaggeri possiedono sovente 150 terne = 450 mononucleotidi, mentre il t-RNA, di questi ultimi, ne possiede solo circa 80. Perciò è possibile separarli l'uno dall'altro mediante una centrifugazione più spinta.

Accanto a questo esistono altri metodi di separazione, come ad esempio quello della filtrazione attraverso *gel*. Qui le cose si svolgono all'incirca come in uno scambiatore di ioni, di quelli usati ad esempio per eliminare la durezza delle acque potabili, salvo che per scambiatore non si usa resina sintetica, ma cellulosa preventivamente trat-

tata con cura. Se ne riempie un tubo verticale di vetro che, secondo le necessità, può variare in lunghezza da 10 centimetri a 6 metri (ed è proporzionatamente stretto o largo). Dall'estremità superiore si introduce, dopo centrifugazione, la parte sovrastante del liquido che contiene, accanto a m-RNA e t-RNA, tutta una schiera di altre sostanze. Si lascia trapelare il liquido nel tubo, e queste finiscono col rimanere sospese nella colonna di cellulosa, formando strati a livelli diversi secondo le condizioni e la loro solubilità. A questo punto si aggiungono, sempre dall'alto e di seguito al primo, liquidi appropriati, come ad esempio soluzioni di sali a concentrazione crescente, e si lasciano colare. In tal modo le sostanze rimaste sospese nel filtro vengono ridissolte a scaglioni, in base al loro peso molecolare ed alla loro solubilità (esse "eluiscono"); l'*eluato* gocciola dal fondo della colonna, ed ogni porzione viene raccolta separatamente.

Con questo metodo di frazionamento si ottengono sovente risultati migliori che con la centrifuga. Succede sovente che due sostanze diverse abbiano lo stesso peso molecolare e le stesse dimensioni. La centrifuga non può distinguerle, mentre la colonna di cellulosa è in grado di farlo, perché due sostanze dallo stesso peso molecolare sono solo di rado esattamente uguali anche per la loro carica e solubilità.

In tal modo gli r-RNA ed i t-RNA si ottengono allo stato puro separati da tutto il resto. I 20 aminoacidi, possibilmente in condizioni di massima purezza, si acquistano in commercio. Il tutto viene mescolato in soluzione o sospensione acquosa: ribosomi, t-RNA, m-RNA, aminoacidi.

Questo sistema privo di cellule non è però in grado di produrre proteine: sono troppi i fattori che ancora gli mancano. L'elenco di tutti i componenti indispensabili alla reazione di sintesi è il seguente:

1. ribosomi
2. m-RNA

3. t-RNA

4. tutti i 20 aminoacidi

5. determinati enzimi

6. ATP

7. un sistema rigeneratore dell'ATP

8. ioni magnesio

9. GTP

Dato che in seguito avremo occasione di ritrovare alcuni dei componenti elencati dal numero 5 al numero 9, è preferibile darne fin d'ora una spiegazione.

5. *Enzimi* - Alla fissazione di un aminoacido all'estremità CCA della "propria" molecola di t-RNA provvede un enzima. Il suo nome è precisamente "aminoacil-t-RNA-sintetasi" perché sintetizza il complesso costituito da t-RNA e dal residuo dell'aminoacido (aminoacil-). Probabilmente vi sono tante aminoacil-t-sintetasi quante sono le diverse edizioni di t-RNA.

Inoltre sono necessari enzimi per il distacco dell'aminoacido dal suo t-RNA e per il suo congiungimento, tramite il legame peptidico, con l'aminoacido "attiguo". Questa tappa è relativamente semplice: avviene soltanto la rottura di un legame, quello dell'aminoacido con il t-RNA, e la formazione di un nuovo quello dell'aminoacido in questione con l'aminoacido precedente, già inserito nella catena polipeptidica non ancora ultimata. Tutto ciò necessita ben poca energia, e può essere compiuto con poco sforzo dall'enzima designato. Le cose stanno diversamente quando deve operarsi l'unione di un aminoacido fin qui "libero" (facente cioè parte della riserva cellulare) con l'estremità CCA di un t-RNA. In questo caso è necessaria una certa quantità, un certo dispendio di energia, e precisamente di *energia chimica*. Ma che cosa significa energia chimica, e dove si può rintracciarla?

Alla fin fine, in ogni composto organico, in ogni composto contenente carbonio, risiede energia (ad eccezione del CO₂). Ad esempio, si possono bruciare l'amido (di patata) o la cellulosa: ad una forte produzione di ca-

lore si accompagna la formazione di CO_2 e di acqua. Un esempio ancora più chiaro è forse quello del benzolo, che si incendia più facilmente. In modo molto semplice si può dire che in questa combustione l'energia chimica, che prima era contenuta nella sostanza, è stata trasformata in energia termica.

Il corpo umano, ed ogni singola cellula, utilizza le sostanze nutritive e di riserva, come gli idrati di carbonio ed i grassi, quali "accumulatori di energia"; gran parte del ricambio è costituita da processi che rendono sfruttabile quest'energia immagazzinata. Con tutto ciò, naturalmente, nella cellula vivente non avviene una combustione con fiamma luminosa: un simile sviluppo di calore distruggerebbe la cellula stessa. Al suo posto, sopravviene una produzione di energia a piccole dosi; il biglietto di grosso taglio rappresentato dall'amido o dal grasso viene scambiato in moneta spicciola. Anche queste monetine contengono ancora energia sotto forma di energia chimica.

Una riserva di "moneta spicciola" si dimostra molto pratica per la cellula. Sarebbe troppo irrazionale la degradazione di una molecola di amido per ogni più piccolo passaggio nella sintesi, come ad esempio nell'unione di un aminoacido libero ad un t-RNA. In primo luogo, si richiederebbe un tempo assai lungo, poi la demolizione — anche di una sola molecola di amido — mette a disposizione più energia di quanta ne richieda il suddetto passaggio nella sintesi. E con ciò arriviamo al componente n. 6 della reazione di sintesi, l'ATP.

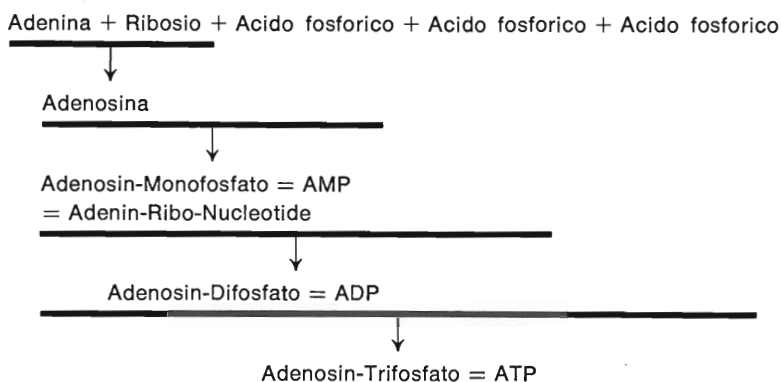
La moneta spicciola universale per tutte le cellule si chiama ATP

Abbiamo qui nuovamente un'abbreviazione; il nome del composto per disteso è: adenosin-tri-fosfato. Si tratta di un composto imparentato con una sostanza che già conosciamo: non è altro che il nucleotide dell'ade-

nina + riboso, al quale si aggiungono altri due residui di acido fosforico, cosicché la molecola nel suo complesso possiede tre gruppi fosforici. Ed è proprio nel legame del secondo e del terzo acido fosforico con il nucleotide che risiede un'energia chimica particolarmente abbondante: si tratta di "legami ad alta energia", di "fosfati ricchi d'energia".

L'energia chimica del legame fosforico può essere trasferita facilmente in o su un altro composto. Nel nostro esempio, in cui si tratta di unire un aminoacido libero al t-RNA, l'energia chimica occorrente viene proprio presa dall'ATP. L'ATP perde un acido fosforico e diventa così ADP = adenosin-di-fosfato, che è più povero di energia; l'energia chimica del terzo acido fosforico è passata ora nel legame tra l'aminoacido ed il t-RNA. (In questo trasferimento, inevitabilmente, un po' di energia si disperde.) Comprendiamo perciò perché si debba aggiungere ATP al nostro sistema privo di cellule con il quale desideriamo fabbricare proteine; per l'unione di ciascun aminoacido c'è bisogno di una molecola di ATP, per una catena polipeptidica di 146 aminoacidi occorre un ATP per 146 volte.

7. Sistema di rigenerazione dell'ATP - Non essendo i nostri metodi analitici ancora abbastanza precisi per raggiungere singolarmente una di queste catene peptidiche, dobbiamo lasciar funzionare per un certo periodo il nostro sistema privo di cellule, fino a quando si siano prodotte quantità *rilevabili* di proteine. In queste condizioni, non sarebbe pratico aggiungere semplicemente tutto il forte quantitativo di ATP necessario, si verrebbe ad inceppare tutto il nostro apparato di sintesi proteica. Al suo posto aggiungiamo invece un sistema di rigenerazione dell'ATP. Si tratta di un piccolo stragemma, che non è il caso di discutere in modo particolareggiato in questa sede, in quanto non ha nessuna attinenza con il principio in sé. (Va soltanto detto che consiste di una sostanza denominata acido fo-



sfo-enol-piruvico, che si produce durante la degradazione degli idrati di carbonio e che, in unione a determinati enzimi, dall'ADP e acido fosforico "rigenera" dell'ATP.)

8. *Ioni magnesio* - Che il nostro sistema privo di cellule debba anche contenere ioni magnesio si spiega con il fatto che sono questi a mantenere unite le sotto-unità dei ribosomi (vedi p. 45). E non solo; c'è anche un'altra ragione: la presenza degli ioni magnesio è necessaria ad ogni trasferimento di energia dell'ATP. È un dato di fatto sperimentale, che non è ancora stato possibile spiegare. (E non si sa neppure in che modo gli ioni magnesio mantengano la coesione delle sotto-unità ribosomiche.)

9. *L'ultimo fattore: GTP* - Si tratta dell'abbreviazione di guanosin-tri-fosfato, che è pure un nucleotide, strettamente imparentato con l'ATP. La guanina (G) è più ricca d'ossigeno e possiede un gruppo —NH_2 situato diversamente rispetto all'adenina (A). Al GTP è affidato un compito molto interessante: provvede al trasporto dei codoni sulla superficie dei ribosomi, e quindi al contemporaneo avanzamento dell'm-RNA. È in un certo senso il motore della macchina da cucire ribosomica. Purtroppo non abbiamo ancora idea di come il GTP svolga il suo compito. Certamente intervengono i legami

fosforici ricchi di energia posseduti dal GTP esattamente come dall'ATP, ma i particolari di questa reazione non sono ancora conosciuti. Si è sempre e soltanto constatato che, in assenza di GTP, non è possibile il cambiamento di posto dell'm-RNA e, di conseguenza, il progredire della sintesi proteica.

Ora abbiamo fatto conoscenza con tutti i fattori. Se ne facciamo un miscuglio in proporzioni adatte e lo "incubiamo" a 37°, possiamo ottenerne vere proteine, al di fuori della cellula, in provetta. In verità non sono catene molto lunghe, si tratta di un miscuglio assai vario delle più disparate catene; ma tutto ciò non deve stupirci, in quanto anche l'm-RNA utilizzato, che porta in sé la specificità dei polipeptidi, è stato estratto come miscuglio dalla cellula vivente. Ad ogni modo sono senza dubbio vere proteine, che possono essere ulteriormente analizzate. L'unica cosa di cui ci si potrebbe rammaricare è che la messe di proteine era e rimane molto scarsa. In vitro non si è ancora potuto superare l'1% della quantità prodotta da una cellula intatta nello stesso spazio di tempo. Diversi possono esserne i motivi. Nel sistema altamente organizzato della cellula tutto si svolge certamente in modo più rapido e con minori difficoltà di

quanto avvenga nel miscuglio disordinato dei 9 fattori. Forse ci manca qualche fattore sconosciuto che possa moltiplicare il raccolto. Forse — e ciò non può a tutt'oggi essere escluso con sicurezza — oltre alla via della sintesi proteica qui descritta ne esistono diverse altre. La delusione per lo scarso risultato quantitativo non è però giustificata, se si pensa quanto più semplice sia un sistema privo di cellule della cellula intatta, con le sue decine di migliaia di sostanze diverse, enzimi e particelle. Perciò nessuno si è scoraggiato. Tanto più che proprio la relativa semplicità dei sistemi privi di cellule offre possibilità concrete di approfondire le nostre vedute con nuovi interventi sperimentali.

Una scoperta assai emozionante fu fatta quando si incominciò a variare singoli fattori od a scambiarli fra di loro. Ci si procurò un sistema privo di cellule completo, ad esclusione dell'm-RNA che si era cercato di separare, ottenendolo da un ben determinato gruppo di cellule o di organismi, ad esempio da una specie di batterio. Se il sistema veniva completato con un m-RNA estratto da un altro gruppo di organismi, ad esempio da cellule di lievito, la sintesi proteica iniziava immediatamente. Ciò significa che il sistema privo di cellule non si è reso conto di aver lavorato con un m-RNA "estraneo"; non ha saputo distinguere tra il proprio m-RNA e quello estraneo, anzi legge supinamente l'informazione contenuta in quest'ultimo, utilizzandola per la sintesi. L'unica interpretazione possibile di quanto abbiamo detto è che sia il meccanismo della sintesi proteica sia il processo di codificazione non sono propri di ciascuna specie, ma universali. Se ciò fosse vero, il lavoro sperimentale risulterebbe molto semplificato. Soprattutto ci dimostrerebbe che l'attività del sistema privo di cellule non costituisce un evento incidentale, il cui risultato è più o meno limitato, se non addirittura casuale, ma un processo fondamentale della vita a livello molecolare. L'universalità è un fatto

così importante che fra poco dovremo dedicarle un intero paragrafo. Ma per ora ci conviene rimanere in laboratorio per vedere come si possa decifrare il codice, sempre mediante un sistema privo di cellule.

1.10 Il deciframento del codice

La più importante scoperta degli anni '60

Dato che in un sistema privo di cellule si può immettere a volontà dell'm-RNA estraneo, vien da pensare di farlo anche con m-RNA artificiale, sintetico, qualora esista. Per ora non si è ancora riusciti ad ottenere la sintesi totale di m-RNA, però non sarebbe neppure necessario per il nostro scopo. È sufficiente scindere degli m-RNA naturali nei loro mononucleotidi, e formare di nuovo con questi componenti una nuova combinazione, possibilmente prestabilita. Dal 1955 si conosce un enzima che agisce in tal senso: è la *polinucleotid-fosforilasi*. Questa, come è indicato nella figura a p. 61, distacca un mononucleotide dopo l'altro e lo mette in libertà, aggiungendovi una molecola di acido fosforico, sotto forma di nucleosid-difosfato. Tale reazione è detta *fosforolisi*, cioè "rottura di un legame con assunzione di acido fosforico". Si svolge in modo analogo alla già nota idrolisi (rottura di un legame con assunzione di acqua). Con una fosforolisi completa si ottiene una mescolanza di 4 composti diversi, l'A-, G-, C- ed U-nucleosid-difosfato. (Uno di questi, d'altronde, ci è già noto: si tratta dell'adenosin-difosfato ADP, che si forma anche dall'ATP con perdita di acido fosforico.) Si possono, con relativa facilità, isolare i singoli difosfati ed ottenere così, ad esempio, U-difosfato o UDP puro (con maggior precisione si dice: uracil-riboso-difosfato = uridin-difosfato). Partendo da questo composto, la stessa fosforilasi, quando agisce in senso inverso, può sintetizzare un polinucleotide costituito unicamente da uracil-mononucleo-

ti, ossia poli-U = poli-uracil-riboso-fosfato = acido poli-uridilico. Di volta in volta viene scisso il secondo residuo fosforico. Questi polimeri costituiti da una sola specie di nucleotide sono detti omopolinucleotidi (dal greco *homos* = uguale).

Nel poli-U si ha la sequenza di basi ... U-U-U-U-U ...; come terna = codone può solo comparire UUU, che si ripete sempre. Se il nostro sistema privo di cellule accetta il poli-U come messaggero e con il suo intervento sintetizza dei polipeptidi, questi dovranno essere costituiti da un solo tipo di aminoacido, e precisamente da quello codificato con UUU. Ciò che nessuno osava sperare si è attuato: il sistema privo di cellule ha costruito una *poli-fenilalanina*.

La quantità ottenuta non fu certo grande, e forti sarebbero state le difficoltà per dimostrare che soltanto la fenilalanina era stata incorporata, con esclusione di ogni altro aminoacido. Per poterlo provare si dovette tuttavia cambiare abilmente il metodo. Al posto di un solo esperimento se ne fecero contemporaneamente 20. Ogni prova conteneva tutti i 20 aminoacidi, ma ogni volta uno di questi (e naturalmente sempre uno diverso) veniva "marcato" in modo particolare. Per la marcatura si usò carbonio radioattivo C^{14} . (Si tratta di C^{14} , sul semiperiodo del quale si è detto a p. 52.) Gli atomi di C^{14} non sono molto stabili, si disintegrano progressivamente e, per opera della loro radioattività, emettono radiazioni che possono essere misurate con il ben noto contatore Geiger. Quando in un aminoacido si sostituisce un atomo normale di carbonio con l'isotopo radioattivo, la radiazione misurata è proporzionale al numero delle molecole di aminoacido presenti.

Nella miscela di aminoacidi usati per le 20 prove si usarono ogni volta 19 aminoacidi normali e 1 radioattivo ("caldo"):

serie 1, con aminoacido n. 1 marcato, e dal n. 2 al n. 20 non marcati;

serie 2, con aminoacido n. 2 marcato, e il n. 1 e dal n. 3 al n. 20 non marcati, e

così via fino alla serie 20, con aminoacido n. 20 marcato, e dal n. 1 al n. 19 non marcati.

Se il nostro poli-U artificiale funge realmente da messaggero, e se UUU corrisponde alla parola in codice per la fenilalanina, evidentemente in tutte le 20 prove si formerà fenilalanina. Deve però manifestare radioattività solo nella serie che contiene la fenilalanina marcata e i 19 altri aminoacidi normali. In tutte le altre serie non dovrebbe comparire radioattività nella proteina formata, fuorché UUU non sia la parola in codice anche per un altro aminoacido. La tabella a p. 62 indica i risultati di queste prove.

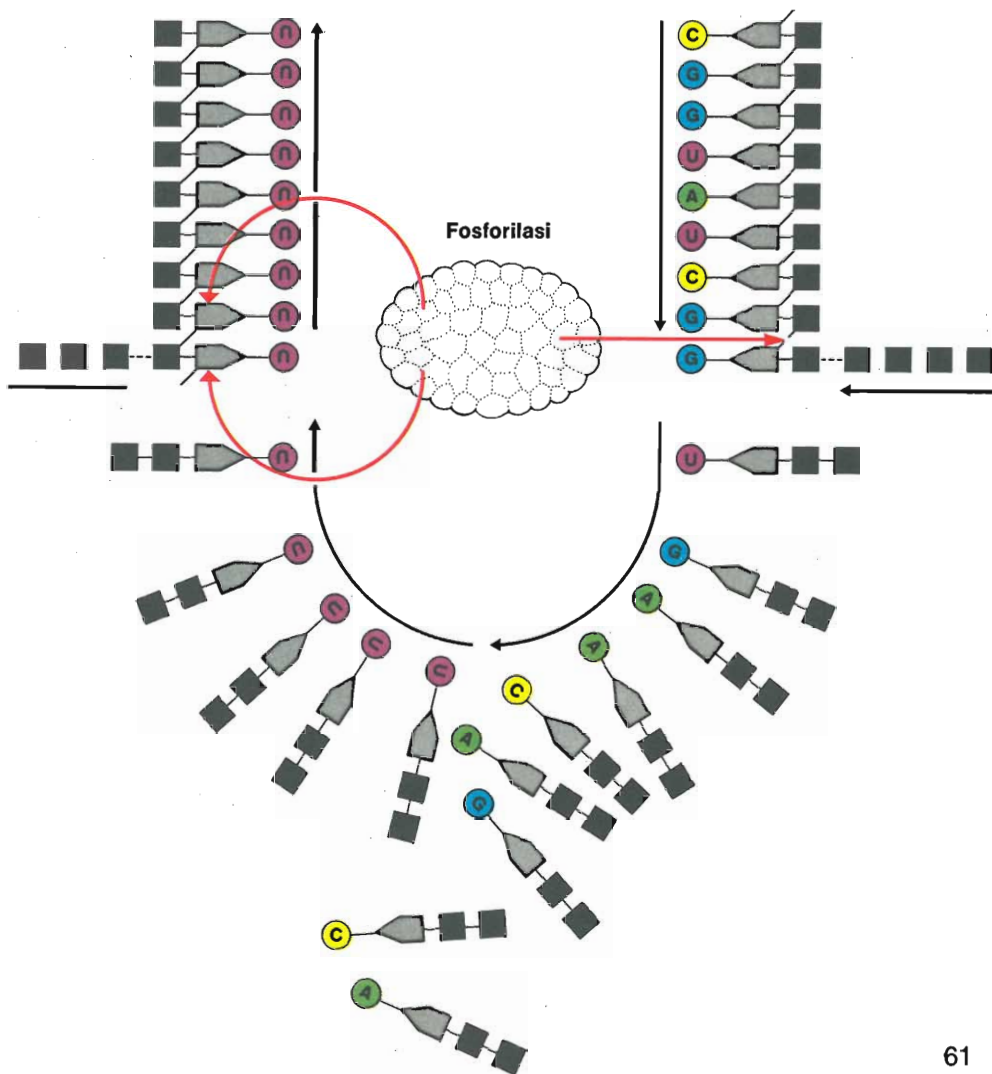
Nella colonna di sinistra sono elencati i singoli aminoacidi che di volta in volta vengono marcati nella miscela dei 20 aminoacidi. A destra, in cifre, sono indicati i pesi (calcolati in base alla radioattività) delle rispettive quantità di aminoacido marcato, che è stato incorporato nella proteina, e precisamente mediante i messaggeri artificiali poli-A (poli-adenina), poli-C (poli-citosina), poli-U, e, per confronto, un RNA messaggero naturale proveniente da cellule di lievito. Si constata facilmente che, usando il poli-A quale messaggero, viene sintetizzata una proteina contenente il solo aminoacido *lisina*, mentre il poli-C è responsabile per la *prolina* ed il poli-U per la *fenilalanina*. Con il poli-U potrebbe anche darsi che, in misura limitata, venisse incorporata della leucina, dato che, in corrispondenza dell'undicesima riga e della colonna poli-U, si legge la cifra 93. Questa è molto piccola in confronto al 2700 della fenilalanina, tuttavia supera il limite di errore (cifre inferiori a 20 possono essere riferite con sicurezza ad impurità). Sul caso "poli-U anche per la leucina", l'inchiesta non è ancora chiusa; certamente si farà luce nei prossimi anni.

È certo però fin d'ora che conosciamo il significato di tre parole del codice: le terne AAA, CCC ed UUU sono responsabili del-

l'incorporazione della lisina, della prolina e della fenilalanina; il primo velo sul mistero del codice degli aminoacidi era stato tolto. Ulteriori progressi si ottennero quando fu possibile fabbricare, oltre agli omopolimeri

(omopolinucleotidi), anche degli *eteropolimeri*. Non si utilizzò più soltanto un tipo di base-riboso-difosfato, come ad esempio UDP, ma se ne mescolarono due insieme, ad esempio UDP e GDP, precisamente nella

La polinucleotid-fosforilasi (al centro) scinde gli m-RNA naturali nei quattro differenti mononucleosid-difosfati (a destra; l'acido fosforico è rappresentato dai quadratini neri). Inversamente, partendo da questi mononucleosid-difosfati e con liberazione di acido fosforico, essa sintetizza nuovi polinucleotidi (m-RNA, a sinistra). Se non dispone di tutti e quattro i tipi di nucleotidi, ma soltanto di uno, l'uridin-difosfato, costruisce allora dell'acido poliuridilico artificiale.



proporzione di 5:1. Poi si lasciò che da questa miscela la polinucleotid-fosforilasi sintetizzasse un polinucleotide composto,

evidentemente con maggiore frequenza; alla fin fine abbiamo immesso 5 volte più di U che di G. Assumendo la probabilità di com-

Aminoacidi marcati radioattivi nella miscela	RNA messaggeri impiegati:			
	Poli-A	Poli-C	Poli-U	RNA del lievito
1 Alanina	0	0	0	28
2 Arginina	2	0	3	93
3 Asparagina	0	—	—	—
4 Acido aspartico	0	0	3	77
5 Cistina	0	0	2	12
6 Acido glutammico	0	0	0	76
7 Glutamina	0	—	—	—
8 Glicina	0	0	0	126
9 Istidina	6	0	0	154
10 Isoleucina	1	3	12	90
11 Leucina	1	0	93	51
12 Lisina	1179	0	6	58
13 Metionina	3	1	6	27
14 Fenilalanina	0	0	2700	57
15 Prolina	0	157	3	48
16 Serina	1	0	16	219
17 Treonina	2	1	1	42
18 Triptofano	0	0	9	135
19 Tirosina	0	0	2	23
20 Valina	0	0	18	28

che finisce con l'esser formato da U e da G associati disordinatamente, secondo una disposizione casuale ("statistica"). Ciò significa più di quanto appaia a prima vista. La tabella a pag. 63 indica sulla prima linea l'eteropolimero poli-UG, con una proporzione delle basi di 5:1, nella seconda colonna tutte le possibili combinazioni per ottenere una terna. Ora per lo statistico è cosa facile calcolare a priori quali saranno le probabilità di comparsa delle possibili terne nella catena composta. Qui i valori assoluti ci interessano meno della frequenza *relativa*. La terna UUU è quella che si ripete

parsa di $UUU = 100$, per le altre combinazioni dobbiamo aspettarci, come indicato nella terza colonna, delle frequenze rispettivamente di 20, di 4 e di 0,8.

A questo punto si offre come messaggero al sistema privo di cellule uno dei polinucleotidi composti, di cui si conoscono le frequenze relative delle otto possibili terne, e ciò in 20 prove successive, in ciascuna delle quali è marcato radioattivamente un aminoacido diverso. Al termine di ogni prova di unione di aminoacidi fra di loro (la quale è già ultimata generalmente dopo 30 minuti) si misurano le radioattività e si met-

tono a confronto i valori ottenuti per ogni singolo aminoacido. Prendiamo uguale a 100 il valore di UUU = fenilalanina, che già conosciamo dagli esperimenti con il poli-U. Fatto sta che il valore relativo di 20 vale per cistina e valina, di 4 per glicina e di 5 per triptofano, come previsto dalla teoria. Il messaggero artificiale unisce determinati aminoacidi in misura corrispondente alla presenza di singole terne; conseguentemente si è senz'altro autorizzati ad assegnare alle terne i rispettivi aminoacidi.

Evidentemente gli esperimenti qui descritti permettono di trarre conclusioni solo sulla presenza di determinate basi nelle terne del codice, ma non sulla *sequenza* di queste basi. Nel frattempo si è riusciti a risolvere sperimentalmente anche quest'ultimo problema; oggi possiamo considerare il codice interamente decifrato (vedi tabella a p. 38).

Viceversa dev'essere ancora chiarito il mistero della "degenerazione" del codice,

cioè del fatto che per l'incorporamento di uno stesso aminoacido possano servire diverse terne, le quali per di più hanno quasi sempre una base in comune, e talvolta anche due. Ma è meglio non immischiarsi nelle ricerche tuttora in corso.

Lasciamo il laboratorio e riprendiamo il quesito intavolato a p. 59.

1.11 L'universalità del codice

Gli esseri viventi parlano tutti la medesima lingua?

Il codice, o meglio il sistema di codificazione, è realmente così generalizzato come dubitavamo? Per poter rispondere affermativamente con sicurezza a questa domanda bisognerebbe aver esaminato molte più specie di animali, piante e batteri di quanto fu possibile finora, non fosse che per ragioni tecniche. Non che si debba conoscere

Polinucleotidi	Terne	Frequenza relativa di ogni terna	Quantità relativa degli aminoacidi incorporati
Poli-UG U : G = 5 : 1	UUU	100	Fenilalanina 100
	UUG, UGU, GUU	20	Cistina 20, Valina 20
	UGG, GUG, GGU	4	Glicina 4, Triptofano 5
	GGG	0,8	
Poli-AC A : C = 5 : 1	AAA	100	Lisina 100
	AAC, ACA, CAA	20	Asparagina 30, Treonina 23,
	ACC, CAC, CCA	4	Acido glutammico 44
	CCC	0,8	Prolina 5
Poli-CG C : G = 5 : 1	CCC	100	Prolina 100
	CCG, CGC, GCC	20	Alanina 22, Arginina 19
	CGG, GCG, GGC	4	Glicina 5
	GGG	0,8	

il modo di codificazione di tutte le specie viventi, ma almeno quello di un loro "campione rappresentativo". Purtroppo ne siamo ancora ben lontani. D'altra parte, tutti gli organismi finora esaminati decifrano i messaggi seguendo il medesimo principio, ed usano le stesse parole di codice: sembra che in un sistema privo di cellule i loro t-RNA, m-RNA e ribosomi possano venir scambiati a volontà. Rispondono allo stesso modo anche all'RNA messaggero artificiale. Il poli-U regola l'incorporazione della fenilalanina in un sistema privo di cellule ottenuto dai seguenti organismi: *Escherichia coli* (colibatterio della flora intestinale), *Salmonella typhimurium* (agente del tifo dei topi), lieviti, verde unicellulare *Clamydomonas*, riccio di mare, moscerino *Drosophila*, coniglio e uomo.

Risultati positivi, simili a quelli avuti con l'omopolimero poli-U, si ottennero con polimeri composti, anche qui in batteri e mammiferi. Ancor più significativo è però un esperimento con RNA naturale. Un t-RNA naturale ricavato da *Escherichia coli* e contenente leucina marcata (cioè un "coli-C*-leucin-t-RNA"), che normalmente trasporta la leucina che dev'essere incorporata nelle coli-proteine, agisce anche in un sistema privo di cellule ottenuto da reticulociti di coniglio. Questi reticulociti, cellule connettivali di forma stellata, della milza, del midollo osseo e dei gangli linfatici, producono tra l'altro emoglobina di coniglio. Estrandone (solo) ribosomi ed m-RNA ed aggiungendovi coli-t-RNA, gli anticodoni del colibacillo "calzano" perfettamente con i codoni del coniglio, e così nell'emoglobina di nuova formazione del coniglio compare leucina marcata. Persino il codice del virus, ad esempio quello del virus del mosaico del tabacco — che provoca sulle piante di tabacco la cosiddetta malattia del mosaico — sembra uguale a quello di *Escherichia coli*.

Fino a prova contraria possiamo dire che vi sono forti probabilità che il codice valga

universalmente. Tutti gli organismi viventi (nella sintesi delle proteine) parlano la stessa lingua! Siamo realmente sulle tracce di un fenomeno fondamentale della vita, che dovrebbe essere comune a tutti gli esseri viventi.

Almeno altrettanto importante dell'universalità è il fatto della manifestazione a livello molecolare dell'esistenza di singole molecole ben individuate che dirigono importanti funzioni vitali: siamo giunti nel cuore della biologia molecolare. Ma se padroneggiamo a tal punto i principi fondamentali della sintesi proteica da poter sottoporre a volontà ad un estratto privo di cellule — proprio per l'universalità di linguaggio — parole in codice estranee o addirittura artificiali, non sarebbero allora giustificate le preoccupazioni espresse da alcuni scrittori, quando temono che fra non molto si potrà "fabbricare" qualsiasi proteina, anche proteine pericolose, ed infine cellule manipolate ed esseri mostruosi?

Le cose non sembrano, almeno per ora, proprio così tragiche:

1. In realtà non sappiamo fabbricare nessuna proteina; possiamo solo prendere componenti cellulari naturali, mescolarli, e poi lasciare che questo sistema privo di cellule produca delle proteine. E l'estratto privo di cellule fa solo quello che le cellule viventi hanno fatto da milioni, da miliardi di anni. Non si può negare che ogni tanto si aggiunga una "nuova" proteina, come ad esempio la polifenilalanina, di cui probabilmente la cellula non sa che fare. E non si può escludere che ad un certo momento tra le "nuove" proteine se ne formi una pericolosa o molto velenosa. Ma finché non si saprà perché un certo aminoacido, situato in un punto ben preciso della catena polipeptidica, regga una ben determinata proprietà della proteina presa nel suo insieme, perciò finché dovremo limitarci a sperimentare per tentativi, possiamo stare tranquilli. Passeranno miliardi di anni prima

di poter provare tutte le 10^{130} combinazioni possibili.

2. Finora non si è riusciti ad introdurre m-RNA artificiale in cellule integre. Le molecole sono troppo grandi per poter attraversare le pareti della cellula. In verità oggi si lavora già con i cosiddetti *protoplasmi nudi*; si tratta di corpi cellulari cui è stata sciolta la parete cellulare mediante enzimi particolari. Queste cellule nude assumono più facilmente sostanze di maggiori dimensioni molecolari. Questo sviluppo va tenuto d'occhio.

3. Anche se si dovesse riuscire a provocare in cellule integre la produzione di proteine "anormali", la maggioranza di queste verrebbe demolita rapidissimamente. Tuttavia non si può negare a priori il pericolo che rimanga qualche superstita e diventi efficiente alterando probabilmente tutto il ri-

cambio cellulare. L'esempio delle infezioni da virus, che tratteremo nel prossimo capitolo, dimostra fin troppo bene che tutto ciò rientra nei limiti delle possibilità, e che non tutti gl'interventi, da un punto di vista terapeutico, servono a rinormalizzare la situazione. Perciò è consigliabile prestare una certa attenzione all'argomento, mentre è superflua l'inquietudine, che si accompagna per lo più all'ignoranza ed all'incertezza. La preoccupazione che si possano un giorno allevare animali ed uomini "artificiali" mediante RNA sintetico può sussistere fino a quando non si conosca il vero significato dell'ereditarietà e non si sappia se e come si possa alterare selettivamente il patrimonio ereditario. Sarà bene perciò nel prossimo capitolo cercare di entrare nei particolari delle nozioni e prospettive che la "genetica su base molecolare" ci offre.

¹ Il chimico americano Linus C. Pauling, professore al California Institute of Technology di Pasadena dal 1931 al 1963, insignito di due premi Nobel, per la chimica nel 1954 e per la pace nel 1962, quest'ultimo per la sua campagna contro gli esperimenti nucleari, è uno dei più grandi e geniali chimici del nostro tempo. Egli infatti, oltre ad essersi interessato di chimica, fisica e biologia, di strutture cristalline, di meccanica quantistica, della struttura degli anticorpi e delle reazioni sierologiche, ha intravisto per primo la struttura elicoidale α -helix della molecola della cheratina, proteina dei capelli. Pauling, da vero pioniere, capì che la teoria del legame di valenza, fondamentale in chimica teorica, poteva essere estesa e applicata a molecole complesse, quali le "grandi molecole biologiche". Al pari di altri geniali scopritori egli realizzò la sua clamorosa scoperta basandosi sul semplice buon senso più che su complesse elucubrazioni di tipo matematico, tant'è vero che i suoi ragionamenti sono di solito chiaribili semplicemente a parole. Pauling infatti arrivò a scoprire l' α -helix non in base allo studio delle fotografie realizzate con il metodo

della diffrazione ai raggi X, seguito peraltro dalla maggior parte dei ricercatori, per così dire "classici" (questo infatti gli aveva semplicemente consentito di scartare un notevole quantitativo di possibili configurazioni tridimensionali per la sua molecola), bensì indagando sulla natura dei legami che tengono uniti tra loro gli atomi di tali molecole. E il lato più rivoluzionario di tutto questo è che, invece di arrivare alle sue conclusioni con formule chimiche, Pauling usò i cosiddetti "modelli molecolari", ossia una serie di palline di diversi colori e dimensioni (rappresentanti i vari atomi) da inserire, rispettando i legami di valenza, su adatti supporti, nell'insieme molto simili ai giocattoli dei bambini. Naturalmente questa scoperta non venne subito unanimemente accettata; infatti, racconta il premio Nobel J. D. Watson, quando Pauling durante la conferenza in cui aveva annunciato la sua scoperta, tolse teatralmente il telo che aveva sino all'ultimo tenuto nascosto il modello dell' α -helix, alcuni suoi colleghi erano rimasti diffidenti e perplessi, augurandosi di poter vedere arrivare quanto prima il giorno in cui "il genio" avrebbe preso un abbaglio. [N.d.R.]

2. La genetica moderna

Trasmissione ereditaria mediante acidi nucleinici

Perché i figli sono sempre diversi?

La trasmissione ereditaria è davvero la più importante manifestazione della vita, come oggi sovente si asserisce? È forse più importante del ricambio? Su questi punti di vista si potrebbe disputare, ma a dire il vero non sono quesiti scientifici. Come non è possibile ricambio senza ereditarietà, non può esserci ereditarietà senza la partecipazione del ricambio. Entrambe le manifestazioni (come anche le altre, quali crescita, sviluppo, eccitabilità, ecc.) si condizionano a vicenda; sarebbe vano cercare di calcolare percentuali che ne dimostrino l'importanza. Lo stesso discorso vale per la nutrizione: senza vitamine l'uomo non vive, ma neppure di sole vitamine. Le vitamine sono forse meno importanti dei grassi, degli idrati di carbonio, delle proteine, solo perché compaiono in quantità piccolissime? A queste discussioni sui gradi d'importanza possiamo rinunciare, ma non allo studio della genetica, che significa scienza dell'ereditarietà.

Dobbiamo subito tener presente che la trasmissione ereditaria è una proprietà intrinseca degli individui viventi e che si verifica solo in cellule viventi. Le sue conseguenze sono evidenti, e consistono precisamente nel fatto che i figli rassomigliano ai genitori. Nessuno si stupisce che da un seme di segala nasca una pianta di segala, e non un banano: che da uova di rana non si sviluppino conigli. Tutto si svolge con tale costanza — secondo leggi addirittura ferree — che appare senza speranza ogni tentativo di mutare sperimentalmente l'immutabile per svelarne i misteri. Eppure so-

vente tra genitori e figli non c'è una vera identità d'aspetto. Due fratelli non sono mai esattamente uguali ai genitori, e tra di loro si può tutt'al più stabilire una certa rassomiglianza. Uno sembra aver "ereditato" gli occhi del padre ed il mento della madre, l'altro invece ha un naso ricevuto non si sa bene da chi, e che pare di diverso stampo. Queste differenze ricadono certamente nelle leggi di Mendel, ma certo non in modo tanto evidente come i "caratteri puri" delle piante di pisello con le quali Gregor Mendel, padre della genetica, sperimentò circa cent'anni fa. Di qui non c'è che un passo per arrivare alla seguente definizione rinunciataria e caricaturale: «Esiste ereditarietà quando qualcosa mendeleggia».

Nella migliore delle ipotesi questa è solo la metà della verità (intesa letteralmente, come vedremo più avanti); non è il caso per ora di preoccuparcene. Ma non vogliamo neppure rassegnarci. È risaputo almeno questo: non si ereditano naso, mento o colore degli occhi, ma "strutture predisponenti", che provocano nella discendenza la formazione e lo sviluppo dei caratteri corrispondenti. Se ci riferiamo alle nozioni esposte nel capitolo precedente, queste strutture predisponenti, dette anche *geni*, altro non sono che unità d'informazione, ossia *unità d'informazione genetica*. Quindi l'essenza dell'ereditarietà consiste:

1. nel trasmettere informazioni ai discendenti;
2. nell'utilizzare queste informazioni per la produzione del carattere definitivo.

Perciò la prima domanda che dobbiamo porci, impostata correttamente, dev'essere: con quali modalità l'informazione genetica degli

individui genitori è trasmessa agli individui della generazione successiva?

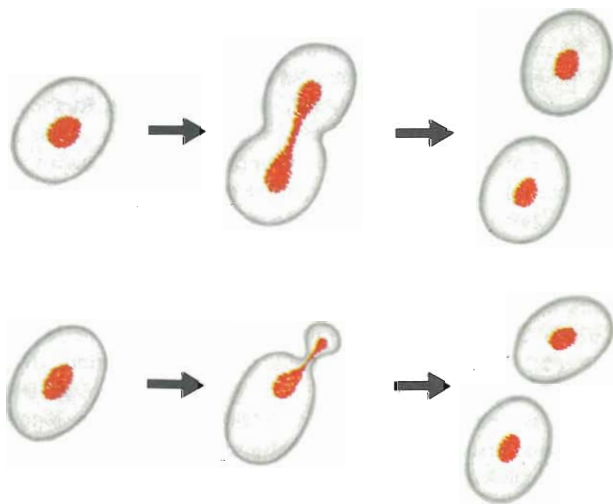
Il substrato materiale dell'informazione ora ci è noto: è il DNA, la "fonte originaria" citata nel capitolo precedente. Esso contiene incisa l'informazione per mezzo delle quattro basi del codice. Con il DNA si è certamente spiegata una parte notevolissima del processo d'informazione genetica; accenniamo solo per inciso che la scienza si sta anche occupando della questione se esistano, oltre a questo, altri tipi d'informazione genetica. Noi ad ogni modo ci occuperemo solo dell'informazione contenuta nel DNA. In questo caso l'insieme di tutte le unità d'informazione (geni) va designata come *genoma*, e la sua trasmissione ereditaria come ereditarietà *genotipica*.

2.01 Sul metodo più primitivo d'aver figli

Qual è in realtà l'origine dei discendenti? Esaminiamo di preferenza gli esseri viventi più primitivi, più antichi, nella speranza che le cose vi si svolgano nel modo più

semplice. Si tratta evidentemente di organismi che trascorrono tutta la loro vita allo stadio unicellulare, come batteri, flagellati (unicellulari di natura in parte vegetale in parte animale, con prolungamento filiforme), amebe, alghe azzurre, alghe silicee (diatomee), alghe coniugate (desmidiacee), e numerosi altri.

Questi hanno sviluppato un modo di riproduzione molto semplice: il loro corpo unicellulare si divide in due parti, ed ogni metà cresce ricostituendo una nuova cellula completa. Molti lieviti seguono una via un po' diversa. Formano alla superficie una piccola gemma, che si stacca dalla cellula madre quando ha raggiunto una certa dimensione, continuando poi la sua vita e la sua crescita come cellula figlia indipendente. Alla fine il risultato è lo stesso: da una cellula se ne sono formate due. Dato che le due nuove cellule sono uguali fra di loro ed uguali a com'era la cellula madre, devono possedere la stessa informazione, lo stesso genoma. Quindi il genoma della cellula madre deve prima raddoppiarsi: un genoma rimane nella cellula madre, l'altro è



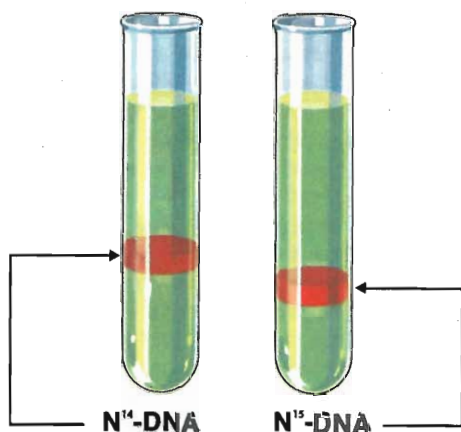
Generazione di discendenti negli unicellulari: a) per strozzamento mediano e divisione (sopra); b) per gemmazione; la protuberanza si stacca per strozzamento quando ha raggiunto una determinata dimensione (sotto), come in certi lieviti, compreso il lievito di birra.

ceduto alla cellula figlia, sia nella gemmazione sia nella divisione, e ciascuna delle due cellule accoglie e contiene un genoma. Questo si capisce facilmente. Nel capitolo precedente si è visto che il DNA esiste come "doppia molecola" a due filamenti fra di loro complementari. Con la scissione della doppia molecola nei due filamenti singoli che la compongono (meccanismo a cerniera lampo) e con la successiva ricostituzione complementare della metà mancante, si formano due doppi filamenti. La divisione cellulare deve inoltre provvedere che ciascuna delle mezze cellule riceva uno dei doppi filamenti, il che si ottiene apparentemente senza eccessive difficoltà.

DNA leggeri e pesanti: trasmissione semi-conservativa

Si può accertare sperimentalmente che tutto funziona alla perfezione. Il DNA normale può essere estratto e selezionato mediante centrifugazione da colibatteri (ne abbiamo già parlato). Esso si concentra in un punto ben preciso della provetta in virtù del suo peso. Si lasciano inoltre sviluppare dei colibatteri in una soluzione nutritiva contenente quale fonte di azoto un sale di ammonio di natura particolare, avente cioè il suo azoto normale di peso atomico 14 (N^{14}) sostituito con un isotopo "pesante", N^{15} . Questo azoto pesante, che è aggiunto di continuo perché non venga a mancare, è anche continuamente utilizzato e incorporato nella duplicazione del DNA, durante numerose successive generazioni (i batteri possono "vivere" con N^{15}); alla fine tutto il DNA della coltura contiene solo più azoto pesante. Questo DNA è così diventato più pesante dell' N^{14} -DNA; nella provetta della centrifuga si stabilizza più in basso.

L'esperimento vero e proprio ha inizio quando si trasferisce una colonia batterica contenente DNA pesante in una soluzione nutritiva contenente soltanto azoto normale,



Il DNA leggero (N^{14}) e pesante (N^{15}) si trovano a livelli diversi nella provetta della centrifuga.

cioè leggero. In queste condizioni, tutto quanto il nuovo DNA sintetizzato è DNA "leggero". Si prelevano quindi dei campioni in tempi diversi e si esaminano con riferimento al "peso" del loro DNA:

1. Dopo circa 20 minuti — in questo periodo di tempo la maggioranza delle cellule si è divisa una volta esattamente — la massa di DNA che se ne ricava si localizza nella provetta ad un livello che non è né quello dell' N^{14} né quello dell' N^{15} , ma a metà strada tra i due: il peso del DNA complessivo è ora diventato intermedio.

2. Raddoppiando il tempo — cioè dopo che le cellule prodottesi in 1 si sono a loro volta divise — la composizione del DNA non è più uniforme. Compaiono in parti uguali due frazioni, e precisamente una di peso intermedio come quella del punto precedente, l'altra leggera.

3. Triplicando il tempo, le cellule "nipoti", formati in 2, hanno esse pure subito un'ulteriore divisione. Anche qui ritroviamo, mescolati, DNA di peso intermedio e DNA di peso leggero, con l'unica differenza che il quantitativo di quest'ultimo è 6 volte superiore a quello dell'intermedio.

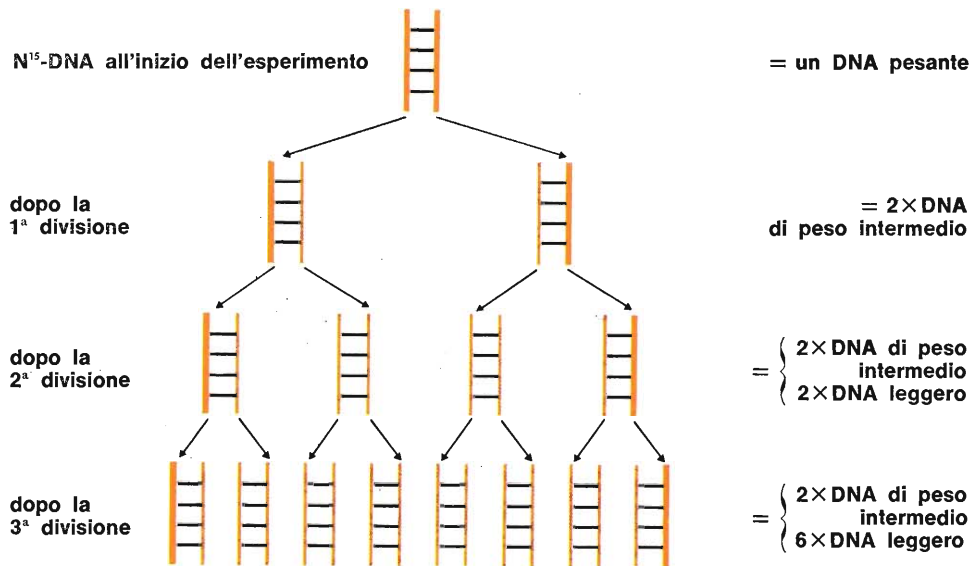
Questi risultati apparentemente sconcertanti

si chiariscono immediatamente se si osserva la figura sotto: i filamenti di DNA pesante con N^{15} sono rappresentati da tratti verticali spessi, quelli di DNA leggero con N^{14} sono invece rappresentati da tratti sottili. I doppi filamenti di DNA della coltura iniziale (con N^{15}) si sono divisi; ogni filamento singolo si è fabbricato un filamento complementare (con N^{14}), ed insieme uniti formano un nuovo doppio filamento ($N^{15} + N^{14}$). Nella divisione cellulare connessa, ogni cellula figlia riceve un doppio filamento completo (cioè l'informazione genomica completa) che però contiene solo *uno dei due precedenti filamenti*, essendo l'altro di nuova formazione. Questo tipo di trasferimento, di trasmissione dell'informazione, si dice perciò *semiconservativo*. Sarebbe di tipo "conservativo" se, rimanendo il vecchio doppio filamento iniziale inalterato, si formasse direttamente un nuovo doppio filamento, e quindi una delle cellule figlie ricevesse tutto e solo il DNA vecchio, e l'altra

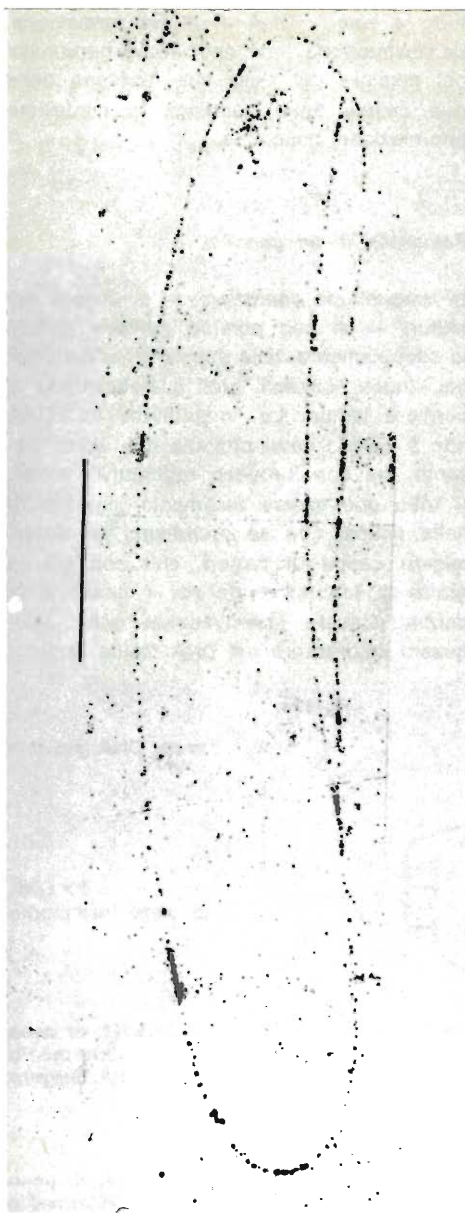
tutto e solo il DNA di nuova formazione. La trasmissione semiconservativa garantisce nel migliore dei modi che ciascuna delle due cellule figlie contenga la medesima informazione genomica.

Fotografia di un genoma

In determinate condizioni — e sempre nei batteri — si può persino rendere visibile lo sdoppiamento della doppia elica del DNA nei singoli filamenti, cioè il meccanismo a cerniera lampo. La "marcatura" del DNA non è questa volta ottenuta con azoto pesante, ma con idrogeno radioattivo (tritio). Il tritio può essere facilmente incorporato nella timina. Ora se prendiamo un determinato ceppo di batteri, che non sia in grado di fabbricare da sé la timina e la debba ricevere somministrata come tale, questo incorporerà nel DNA timina radioat-



Trasmissione "semiconservativa" del DNA pesante ai discendenti della prima, seconda e terza generazione. Completamento dei filamenti singoli in filamenti doppi con filamenti di DNA leggero. A destra sono indicati i rapporti tra DNA pesante, intermedio e leggero.



Un genoma di *Escherichia coli* disteso su una sottile pellicola. È "marcato" con puntini neri prodotti dal tritio radioattivo. Il genoma ha forma ovale o circolare; sulla destra si osserva la fenditura (raddoppio del genoma). Il tratto di riferimento sulla sinistra corrisponde a 100 μ .

tiva. (Invece l'RNA contiene uracile al posto di timina, e non può quindi essere marcato con timina.) In tal modo viene marcato il DNA di nuova formazione.

Il tritio emette particelle β , molto povere di energia; tuttavia la radiazione β , anche se non giunge molto lontano, è sufficiente per provocare annerimento su una lastra fotografica. Allora, se dissociamo con cautela delle cellule di colibacillo il cui DNA sia stato marcato radioattivamente, è possibile estrarlo, distenderlo e sommergerlo in una emulsione fotografica. Se lo sviluppo avviene dopo un tempo sufficientemente lungo di permanenza al buio (parecchie settimane), si rintraccia una lunga catena di puntini neri: solo in corrispondenza del DNA ("irradiante") la lastra si è annerita. Questi punti da parte loro tracciano ("marcano") un ovale leggermente piegato, cioè una linea chiusa su se stessa. Che il genoma dei batteri sia davvero circolare o ellittico? Questa strana osservazione ci impigherà ancora molto in seguito; per ora rivolgiamo la nostra attenzione alla parte destra della figura a fianco: qui il DNA è spaccato in due filamenti. Evidentemente il genoma sta proprio raddoppiandosi col meccanismo a cerniera lampo.

Ciò che vale per le proteine, vale anche per il DNA: l'elica di DNA¹

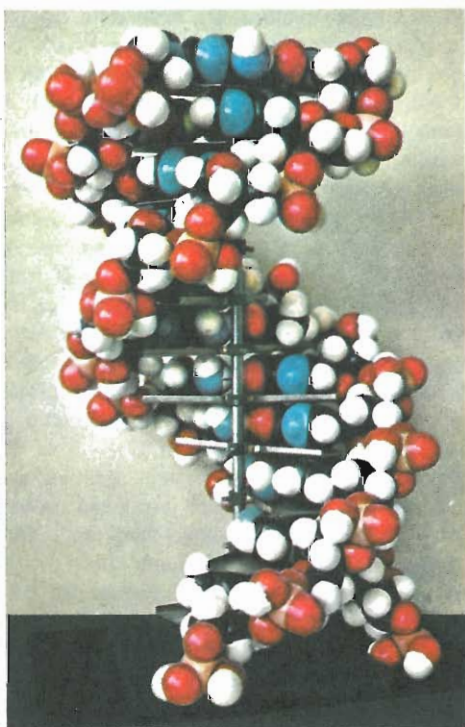
Il meccanismo della separazione e del raddoppio dei singoli filamenti è apparentemente abbastanza semplice, in quanto i legami che tengono uniti i due filamenti sono costituiti "soltanto" da ponti di idrogeno, che si spezzano facilmente in virtù della loro relativamente bassa energia di legame. In verità non si sa ancora chi dia alla cerniera lampo l'ordine di aprirsi e di fabbricare i filamenti complementari. Una cosa è però sicura: quest'ordine deve essere già stato eseguito, quando ha inizio la divisione cellulare o la gemmazione. Se i doppi

filamenti di DNA fossero disposti come le stanghe di una scala ed i ponti di idrogeno rappresentassero i pioli dei gradini (così come sono rappresentati nella figura a p. 69), la separazione delle due stanghe sarebbe assai semplice. Le molecole di DNA hanno invece le loro particolarità. A somiglianza delle proteine, le quali, oltre alla loro struttura primaria (rappresentata dalla sequenza degli aminoacidi), assumono ancora almeno una struttura secondaria, cioè la forma ad elica, anche nel DNA la catena distesa si avvolge ad elica. Non si tratta però di un'elica semplice, ma di una doppia elica: due molecole di DNA unite e formanti un doppio filamento sono attorcigliate su se stesse. Le figure qui sotto mostrano chiaramente questo assetto, quel-

la a sinistra schematicamente, quella a destra con un modello plastico. Risulta evidente che una separazione pura e semplice dei due filamenti non si può avere. È necessario eliminare prima la torsione, cioè il doppio filamento deve ruotare intorno al suo asse centrale, altrimenti in uno dei due filamenti dovrebbero avvenire delle rotture — subito rimarginate — ad ogni o più passi dell'elica, in modo che da quest'apertura possa sgusciare fuori il secondo filamento. Ma questa ipotesi non è più accettata oggi. Uno svolgimento con rotazione di questo genere, che deve avvenire nella trasmissione ereditaria semiconservativa, è senz'altro possibile fisicamente, ma per comprenderlo dal punto di vista fisiologico e della biologia molecolare sono necessari



Due molecole di DNA attorcigliate su se stesse e formanti una doppia elica.



Modello di struttura della doppia elica di DNA. È rappresentato esattamente un giro completo.

presupposti insoliti. Si è potuto calcolare, mediante dati biochimici sul tempo necessario ad una molecola di DNA per raddoppiarsi, e sulla lunghezza stimata di una doppia elica di DNA, che la rotazione intorno all'asse longitudinale avviene a 10.000 giri al minuto primo. Non ci resta altro che accettare questa cifra; speriamo che i risultati di ulteriori ricerche possano spiegarci l'esistenza di tali enormi velocità di rotazione. Il problema dello svolgimento si complica per un altro fatto che non abbiamo finora considerato. Non senza motivo si è precisato che, nella preparazione per l'impressione fotografica, il coli-DNA doveva essere estratto con cautela e disteso. Ciò che vediamo sull'emulsione fotografica non è la riproduzione della disposizione naturale del doppio filamento di DNA, ma quella di un'elica distesa. Se misuriamo la sua lunghezza (tenendo in considerazione l'ingrandimento) si ottengono valori di circa 1 millimetro (900 μ). Una cellula batterica è però lunga soltanto da 1 a 2,5 μ , è cioè dell'ordine di 1/1.000 di millimetro. La doppia elica con le sue informazioni genetiche deve perciò formare numerosissime pieghe, per poter essere contenuta in una cellula batterica. Non sappiamo ancora se si tratta di pieghe regolari, corrispondenti all'incirca a quelle della struttura terziaria delle proteine, oppure se l'elica è raggomitolata a caso. In ogni modo, però, questo groviglio non deve ostacolare lo svolgimento e la replicazione del DNA.

Trattando delle piante e degli animali superiori, ritroveremo questo problema: quanto è stato detto finora vale solo per i batteri. I batteri non possiedono nuclei ed a rigore neppure cromosomi (anche se per semplificare il linguaggio si parla sovente di cromosomi batterici). In realtà nelle cellule batteriche esiste una sola doppia elica di DNA aggrovigliata, che contiene tutto il genoma e quindi tutta l'informazione genomica. Con la divisione cellulare ogni cellula figlia riceve esattamente la stessa

informazione, la stessa doppia elica di DNA, con la medesima successione di terne; le cellule figlie sono identiche tra di loro ed alla cellula madre.

Questo tipo di riproduzione si dice *asessuale* o *vegetativa*; tramite suo si ottiene ciò che potremmo definire una "ereditarietà per eccellenza", in quanto si producono discendenti identici e non simili soltanto. Intendiamo definirla "trasmissione ereditaria fondata sulla divisione di una doppia elica di DNA". Può sembrare una circonlocuzione complicata, ma è corretta, e ci faciliterà più avanti il confronto con le piante e gli animali.

2.02 Nucleo e divisione nucleare

Privilegio delle piante e degli animali

Riportandoci all'età della Terra, le piante e gli animali non sono certamente "antichi" come i batteri; sono comparsi più tardi. In compenso sono più "evoluti": attraverso associazioni cellulari più o meno labili, in ultimo si sono formati degli organismi pluricellulari con aspetto esterno e specializzazione interna caratteristici, ed ancora altre particolarità. Questo livello superiore di evoluzione si ritrova anche nelle singole cellule. Così, mentre nel corpo cellulare dei batteri, cioè all'interno della parete cellulare, si possono contare 1 o tutt'al più 2 gomitolini di DNA, nelle piante ed animali troviamo regolarmente un *nucleo cellulare*, che è avvolto in una membrana nucleare e contiene, oltre al DNA, uno o più corpiccioli (nucleoli), costituiti da RNA.

Qui, come nei batteri, il DNA contiene l'informazione genetica. Dato che le cellule vegetali ed animali si dividono con frequenza, deve essersi sviluppato anche in questo caso un meccanismo che permetta la trasmissione dell'informazione. Ma nelle cellule degli esseri superiori il DNA non si presenta come una sola doppia elica raggomitolata,

ma concentrato e suddiviso in vari corpiccioli, detti *cromosomi* (dal greco *chroma* = colore, cioè corpi colorabili; colorabili con coloranti basici che si fissano sugli acidi nucleinici).

In realtà, in una cellula "formata", differenziata, in una cellula che non sia proprio sul punto di dividersi, questi cromosomi non sono visibili. Con i coloranti nucleari il nucleo cellulare si tinge piuttosto uniformemente; tuttavia lascia intravedere all'interno una struttura granulare od una specie di reticolo, ed all'esterno, sempre, un involucro o membrana nucleare che avvolge e delimita il nucleo stesso. (Più avanti, nel capitolo "Scrutiamo la cellula", vedremo che questa membrana nucleare, a voler essere precisi, non appartiene affatto al nucleo, ma è prodotta dalla sostanza che lo circonda, cioè dal citoplasma.)

Le cose stanno diversamente quando una cellula si prepara alla divisione. Il primo passo in tal senso è, regolarmente, una *divisione del nucleo* (le eccezioni possono essere trascurate). Non si tratta assolutamente di un semplice dimezzamento del contenuto nucleare, come si potrebbe avere con uno strozzamento mediano; simile procedimento non potrebbe mai assicurare un'esatta trasmissione dell'informazione genetica ad entrambi i nuclei figli. Invece si attua un addensamento del contenuto nucleare, che si concentra e contrae in un determinato numero di cromosomi, costante per ogni specie. Messi insieme, questi cromosomi contengono ora tutto il materiale ereditario rappresentato dal DNA. Osservando più attentamente, si nota che i cromosomi, per lo più allungati, in realtà sono scissi longitudinalmente; sono così costituiti da due metà nel senso della lunghezza, dette *cromatidi*.

Nel frattempo il nucleo, o meglio lo spazio nucleare, è diventato leggermente ovale. Le due metà di ogni cromosoma migrano verso i poli estremi dello spazio nucleare, l'una verso il polo "anteriore" o "superiore", l'al-

tra verso quello opposto. Là, queste metà di cromosomi — ne esistono evidentemente tante quanti erano in origine i cromosomi — si riuniscono, vengono circondate da una nuova membrana nucleare, e si dissolvono perdendo i propri contorni, finché tutto il contenuto nucleare ridiventa uniformemente colorabile e nella cellula rimangono due nuclei, e precisamente due nuclei identici. In seguito, tra questi due nuclei, si forma una nuova membrana cellulare. Questa divide il rimanente contenuto cellulare, specialmente il citoplasma, in due parti, ed alla fine rimangono due cellule mononucleate, i cui nuclei contengono informazioni genetiche identiche tra di loro ed a quella della cellula madre.

Questo procedimento, che è indubbiamente importantissimo per la cellula, si dice *mitosi* (dal greco *mitos* = filamento). Dobbiamo approfondirne lo studio, perché con essa si compie, in modo simile se non proprio identico a quello dei batteri, una trasmissione ereditaria per eccellenza: una trasmissione ereditaria fondata sulla mitosi. Il processo analogo nei batteri era stato definito in modo circostanziato "trasmissione ereditaria fondata sulla divisione di una doppia elica di DNA".

Questa è stata una descrizione estremamente semplificata della mitosi, per meglio farne risaltare in un primo tempo il principio chiamato in causa. Volendone approfondire il significato, è consuetudine suddividerla in un certo numero di fasi. Ciò è evidentemente abbastanza arbitrario, in quanto in realtà la mitosi è un processo continuo. Però tale suddivisione si è dimostrata assai pratica, e conviene farne uso.

Scomposizione della mitosi

Profase (preparazione): il contenuto nucleare si scinde in due componenti, uno fortemente colorabile e l'altro per nulla colorabile.

bile. La parte colorabile consiste apparentemente di granuli o di minuti trattini sparsi disordinatamente; ma ben presto, col progredire dell'addensamento, si riscontra che questi granuli fanno parte di lunghi filamenti o nastri avvoltolati fra di loro. Sono cromosomi "non ancora completamente formati". Però già in questa fase precoce essi sono scissi longitudinalmente formando i due cromatidi; il raddoppio delle unità d'informazione si è già compiuto!

Durante la profase si verifica ancora la scomparsa della membrana nucleare, che viene "fusa", scomposta, in quei costituenti citoplasmatici che le avevano dato origine. Inoltre i nucleoli si dissolvono, ed ai due poli opposti della cellula appaiono formazioni dette placche polari (nelle cellule vegetali) o centrioli (nelle cellule animali). Da queste strutture, più tardi, irradiano formazioni simili a fibre che si attaccano ai cromatidi e, tirandoli, li separano.

Metafase (raccolta): i cromosomi provenienti dalla profase, ancora distesi, subiscono un avvolgimento a vite (detto per lo più, erroneamente, spiralizzazione), e con ciò un accorciamento ed un ispessimento. Si tratta dello stesso principio incontrato nell'avvolgimento ad elica delle catene proteiche formanti le α - o β -helix, ma ora non ci troviamo più affatto nell'ambito delle dimensioni molecolari. Mentre l'elica di una proteina ha un diametro di circa 25 Å, quello di un cromosoma è di circa 500 volte maggiore, aggirandosi sui $10.000 \text{ Å} = 1 \mu = 1/1.000$ di millimetro. Terminato questo avvolgimento, i cromosomi, e con questi naturalmente anche i cromatidi, si sono contratti al massimo, formando bastoncelli compatti, talvolta quasi delle sferette. I bastoncelli appaiono sovente piegati, quasi spezzati senza distacco, ed il gomito così formato non sempre si trova nel mezzo. A questo punto, tutti i cromosomi si dispongono abbastanza regolarmente su di un piano situato tra le due placche polari e perpendicolare alla loro linea

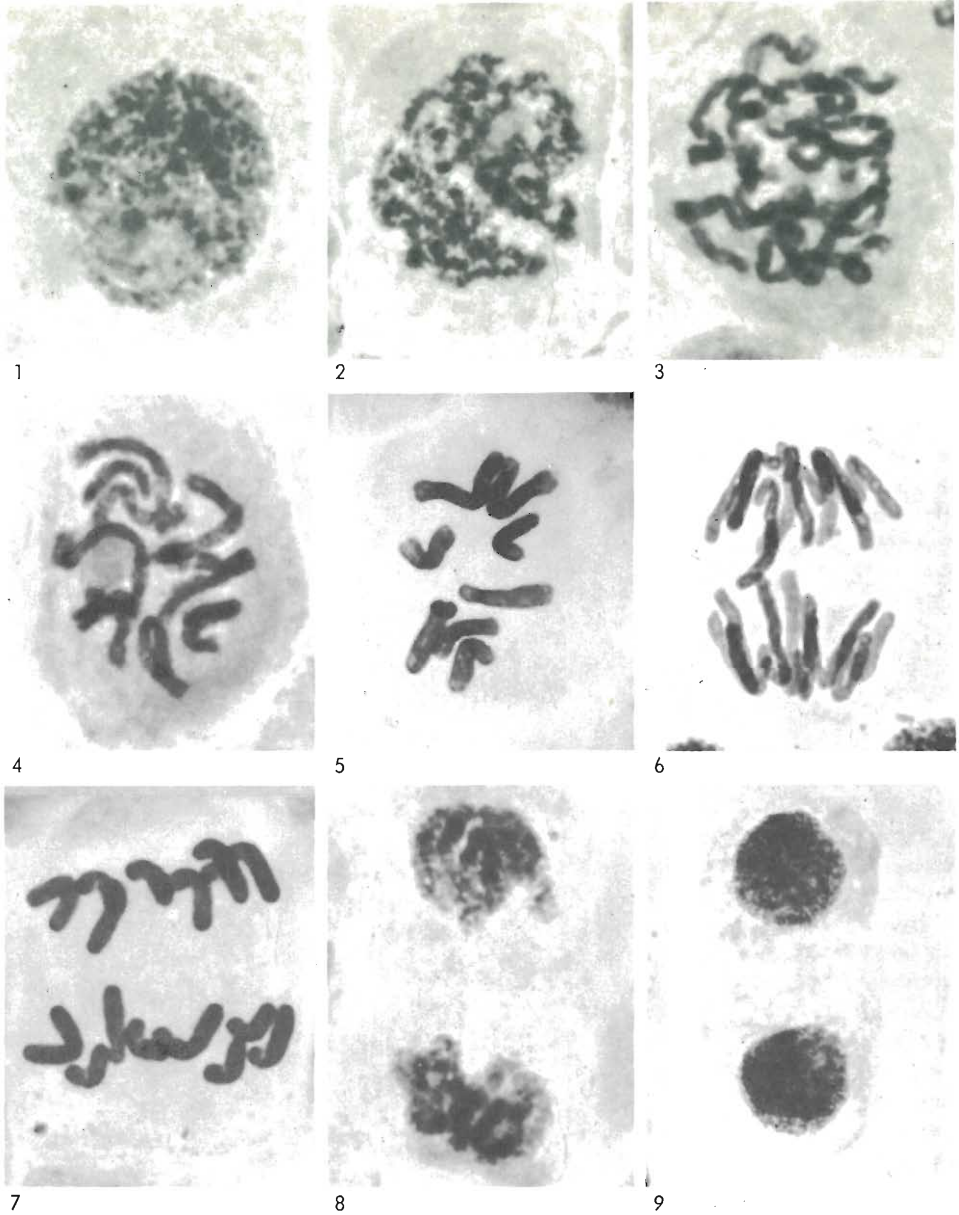
di congiunzione. Con termine colorito questo piano è detto *piastra equatoriale*, perché coincide, per così dire, con il piano equatoriale di un nucleo sferico e leggermente allungato coi suoi due poli.

Dalle placche polari o, secondo i casi, dai centrioli, si irradiano ora delle fibrille, che si dirigono di preferenza verso i cromosomi. Dato che l'insieme di queste fibrille assume l'aspetto di un fuso, si parla anche di *fibre del fuso*. Esse generalmente si attaccano nel punto piegato a gomito e leggermente assottigliato dei cromatidi (detto anche commessura).

Anafase (migrazione): ora i cromatidi, compatti e perciò facilmente trasportabili, migrano verso i poli della cellula: un cromatidio di ciascun cromosoma verso il polo superiore, l'altro verso quello inferiore. Secondo ogni apparenza non si muovono da soli, ma sono "tirati" dalle fibre del fuso, che progressivamente si accorciano; forse intervengono contemporaneamente fibre di spinta, poste tra i due cromatidi di uno stesso cromosoma, per separarli ed allontanarli.

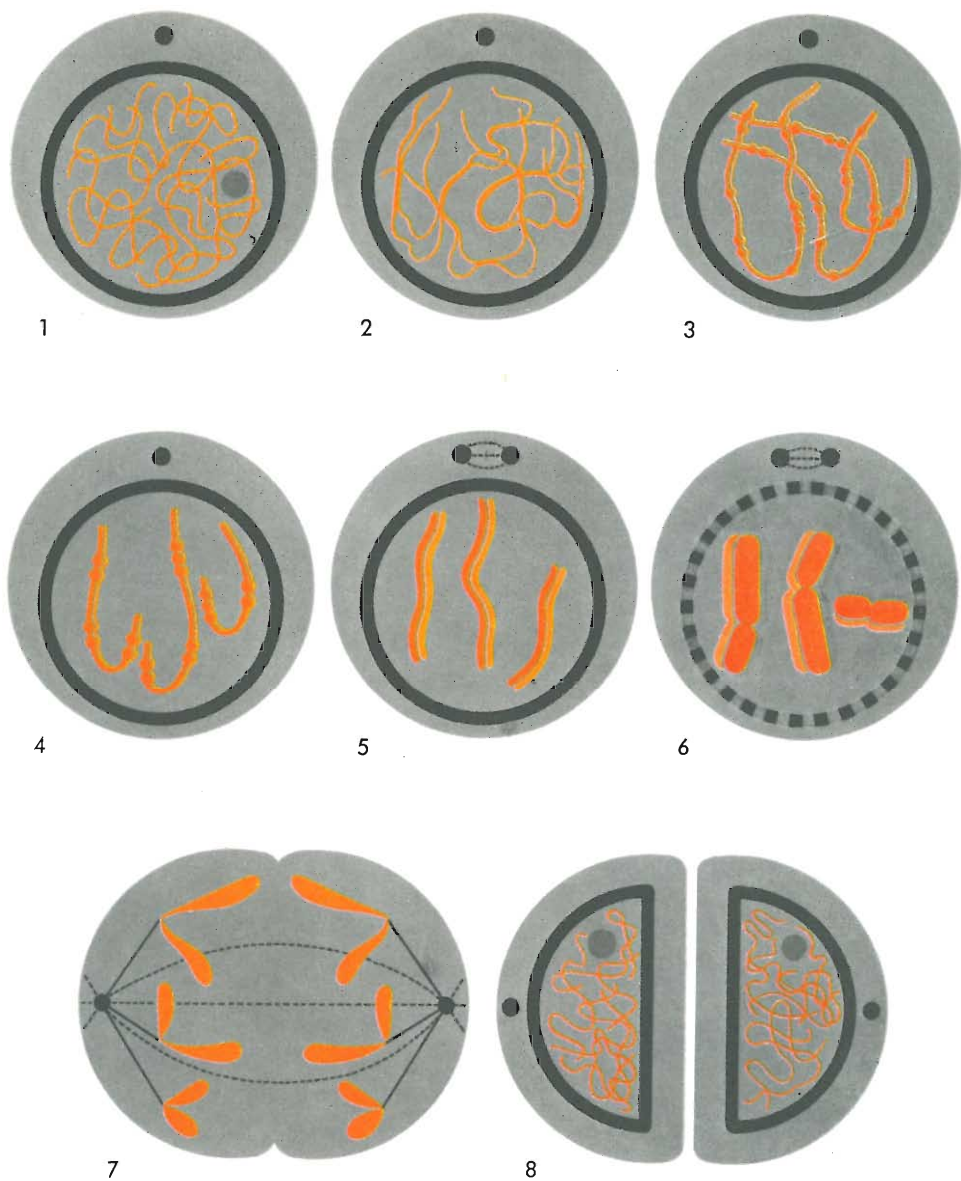
Telofase: lo scopo della mitosi è così raggiunto, i cromosomi sono arrivati ai poli. Ora, per così dire, si ripete una profase in senso inverso: i cromatidi attorcigliati a vite si allentano e si distendono, fin che i loro contorni perdono completamente la loro nitidezza, nuovi nucleoli vengono formati, il citoplasma fabbrica le nuove membrane nucleari. Si sono formate due cellule figlie, i cui cromatidi, evidentemente, si possono ora chiamare cromosomi (nell'interfase, cioè nel periodo di tempo che intercorre fino alla divisione seguente, i nuovi cromosomi devono però ricominciare a dividersi ciascuno in due cromatidi, con scissione longitudinale).

Fra i due nuclei si possono osservare, per un po' di tempo ancora, i residui del fuso, detti anche *fragmoplasti*. Nel piano equatoriale compaiono piccole formazioni vescicolari, che si fondono fra di loro formando



Microfotografie delle fasi della divisione nucleare: 1, 2 profase; 3, 4 metafase; 5 piastra equatoriale; 6, 7 anafase; 8, 9 telofase.

La genetica moderna



Fasi della mitosi: 1, 2 profase; 3, 4, 5 metafase; 6 piastra equatoriale; 7 anafase; 8 telifase.

una specie di setto. Questo in principio è più o meno fluido, ma ben presto si solidifica estendendosi fino alle vecchie pareti cellulari. Ormai tutto il contenuto cellulare è diviso; da una vecchia cellula si è arrivati a due nuovi elementi del tutto uguali. Non soltanto l'informazione genetica è stata trasmessa esattamente, ma è stata anche assicurata la continuità di un essere vivente. E con questo abbiamo individuato i fini — o almeno alcuni dei fini — che devono essere raggiunti con la divisione del nucleo e della cellula. Con sufficiente esattezza sappiamo ora a quale scopo si compia una mitosi, e comprendiamo che i processi descritti sono perfettamente idonei, e forse i soli possibili, per ottenere il risultato desiderato. Ma poco più che niente si sa sulle ragioni e le cause di tali manifestazioni. (Difficilmente una descrizione è anche una spiegazione. La descrizione minuziosa della battaglia di Salamina non ci spiega in nessun modo come si fosse giunti alla guerra, e, in quella guerra, a quella battaglia!)

Il segnale di partenza per la mitosi

Non dobbiamo dimenticare che pur essendo possibile seguire al microscopio la mitosi — che del resto dura normalmente da un'ora e mezzo a due ore — i processi che la provocano, guidano e regolano si svolgono senza dubbio a livello molecolare, all'incirca come avviene nella sintesi proteica. E se ora ci poniamo domande precise (chi o che cosa dà il segnale di partenza alla profase? chi o che cosa provoca l'avvitamento dei cromosomi e la loro sistemazione sulla piastra equatoriale? perché le fibrille traenti si contraggono mentre quelle respingenti si distendono? chi scioglie la membrana nucleare ed i nucleoli e li ricompone entrambi?) dobbiamo allora rinunciare a rispondere, anche se la mitosi è nota da molti decenni.

Non sono certo mancati i tentativi di spie-

gazione. Per molti anni si è creduto di aver trovato nella *relazione nucleo-plasmatica* il fattore che provoca la mitosi. Questo concetto fa riferimento ad una cellula "giovane", che ha appena compiuto la telofase, e che incomincia a crescere. In tale condizione si constata che il nucleo cresce più lentamente del citoplasma circostante. Così i rapporti di volume, di massa e di superficie mutano progressivamente a discapito del nucleo. Si ammette che, raggiunto un certo limite, gli scambi reciproci di sostanze tra nucleo e citoplasma siano talmente alterati da costituire per il nucleo un motivo d'entrare in divisione. Tale interpretazione può essere accettabile, ed è forse all'ingrosso anche giusta, però mancano dimostrazioni sperimentali conclusive. Ed inoltre, finché non sapremo *quali* sostanze vengano ostacolate nei loro scambi, quali (altre?) sostanze provochino la mitosi e *come* la provochino, non avremo chiarito nulla di fondamentale.

Ancora più difficile sembra la soluzione di un quesito che fin qui non ci siamo ancora posti. Se non esistono dubbi che la replicazione identica dell'informazione genetica avviene anche negli organismi nucleati secondo il meccanismo della cerniera lampo della molecola di DNA, com'è disposta la doppia elica nei cromosomi, che sono 500 volte più spessi di quelle molecole? Esistono qui fasci interi di doppie molecole (di uguale tipo?), o sono queste avvolte su se stesse singolarmente o a gruppi? Se è vero, com'è probabile, che quest'ultima sia l'ipotesi giusta, come devono essere fatte queste viti perché non venga ostacolato lo svolgimento della doppia elica di DNA (problema questo già incontrato a p. 71) e la scissione longitudinale dei compatti cromosomi per la formazione dei due cromatidi?

Anche se potrà sembrare strano, proprio questo difficile interrogativo è il più vicino ad una soluzione. Si finisce naturalmente col dover considerare la struttura sottile dei cromosomi in generale. Per poter dare (an-

che solo approssimativamente) una risposta, dobbiamo prima esaminare una serie di fatti che solo più tardi verranno discussi; si riferiscono alla possibilità di identificare e distinguere certe strutture non solo con i microscopi normali o elettronici, ma anche con metodi genetici. Possiamo per ora accantonare questo problema, che ritroveremo inevitabilmente più avanti.

2.03 La riproduzione asessuale ha del vantaggio...

Talee e colture di tessuti

Prima di trattare l'argomento, consideriamo ancora una volta le conseguenze della mitosi, o della "divisione di una doppia elica". Potrebbe sembrare che le nozioni acquisite non ci abbiano portati molto avanti. Infatti la moltiplicazione o generazione asessuale è limitata ad esseri viventi inferiori, e poiché le piante più evolute si riproducono sessualmente, la più importante dovrebbe essere proprio la riproduzione sessuale. Questo è vero però solo in parte. Evidentemente gli organismi viventi superiori non hanno abbandonato la riproduzione asessuale senza buone ragioni; possono conservare la loro specie benissimo anche rinunciandovi. Ma proprio *perché* gli esseri viventi inferiori e più semplici si servono largamente e talvolta unicamente della riproduzione asessuale escludendo la sessualità, questo modo di riprodursi costituisce uno dei fenomeni basilari più antichi.

E infine, la riproduzione e moltiplicazione asessuale non è affatto così rara negli organismi superiori. Una cellula uovo fecondata (diploide) diventa organismo pluricellulare (diploide) proprio mediante divisioni mitotiche: la mitosi è perciò uno dei cardini della crescita in generale, intendendo qui per crescita la *moltiplicazione delle cellule* e non il loro aumento di volume.

E non possono forse una stella di mare ed

una lucertola *rigenerare* rispettivamente un braccio o la coda perduti? Non possono certi vermi tagliati a metà riformare l'intero corpo? Questa capacità di rigenerazione è particolarmente accentuata nei vegetali, tanto da essere utilizzata su larga scala per la moltiplicazione. Tutti conosciamo le *talee* di foglie di begonia che riproducono le parti mancanti e formano una nuova pianta completa. In molti vegetali, talmente selezionati da diventare sterili o generare solo progenie stentata, l'unica possibilità di sopravvivenza e moltiplicazione è quella fornita dalla talea. Si tratta invero di una moltiplicazione artificiale, però molto efficiente. E le patate? Nessun contadino le coltiva da semi, ma da tuberì, che non sono altro che parti resesi indipendenti dalla pianta madre (in altri vegetali si tratta di bulbi). È comune a tutti questi discendenti la particolarità di possedere cellule derivate da quelle della pianta madre in modo vegetativo, asessuale, mediante mitosi, e perciò identiche fra di loro ed identiche alle cellule della pianta madre: possiedono la stessa informazione genetica.

Queste generazioni di individui a caratteri costanti si dicono *cloni*, e non si tratta soltanto di un gioco o di una pratica redditizia come può essere la moltiplicazione per talea: il clone in sé ha un importante significato scientifico e pratico. Quando ad esempio si vuole esaminare l'influenza del clima, l'effetto della somministrazione di concime o di mezzi protettivi dei vegetali, bisogna avere a disposizione una grande quantità di piante — o, secondo i casi, di animali — *geneticamente identici*. E tali condizioni non si ottengono quasi mai con riproduzione e moltiplicazione sessuale.

A questo punto è bene anticipare che la facoltà di moltiplicarsi vegetativamente, e cioè asessualmente, può essere utilizzata anche in un altro campo, quello della *coltura dei tessuti*. Per tessuto s'intende un'associazione di cellule dello stesso tipo. Esistono così ad esempio tessuto epiteliale, tes-

suto connettivo, tessuto ghiandolare, e nei vegetali tessuto di assimilazione, tessuto di riserva e molti altri ancora (notare che i tessuti sono generalmente catalogati secondo un criterio funzionale e non secondo l'aspetto e la struttura delle singole cellule). Se si isolano, mantenendole scrupolosamente asettiche, alcune delle cellule di un organismo — pianta, animale o uomo — e si pongono in un mezzo liquido o in un terreno più o meno solido di coltura, queste stesse cellule si dividono (mitoticamente!), aumentano di numero e formano ammassi estesi di cellule = tessuti. Unica condizione è la presenza di una varietà sufficiente di sostanze nutritive. Pertanto abbiamo a disposizione un mezzo per stabilire con esattezza il fabbisogno di sostanze nutritive di ciascun tessuto. Le colture di tessuti sono però diventate indispensabili non solo per queste ricerche di fisiologia, ma anche per quelle che si riferiscono ai problemi dello sviluppo e della differenziazione, del cancro e della immunologia (studio delle reazioni di difesa). Ripareremo in seguito di questi argomenti, che qui abbiamo solamente citati per dimostrare che la moltiplicazione asessuale è più importante di quanto sembri a prima vista.

Su di un solo punto è giustificato un certo scetticismo: la mitosi in sé ci dice ben poco di quanto avviene in realtà nella trasmissione ereditaria. La scienza dell'ereditarietà non potrebbe essere fondata unicamente su di essa. Se la mitosi viene bloccata, per esempio con veleni mitotici, cessa la generazione di discendenti; se invece la si lascia procedere, i discendenti si rassomigliano più di quanto si rassomiglino due uova fra di loro (le uova di gallina provengono da due razze diverse di galline e normalmente da un processo sessuale!). Non esistono quasi possibilità di interventi sperimentali e perciò di analisi più precise. Ed una cosa ancora non dev'essere dimenticata: con la mitosi (come con la divisione di una doppia elica di DNA nei batteri) si

ottengono discendenti sempre identici, veramente uguali in tutti i particolari, in modo che *non è possibile un'evoluzione, uno sviluppo, un perfezionamento degli organismi viventi*. Il principio della mitosi è *arci-conservativo*; per suo mezzo non si sarebbero mai potuti sviluppare organismi altamente differenziati, partendo da esseri inferiori più semplici. La vita si sarebbe fermata al livello dei batteri, dei flagellati e delle amebe; quella filogenesi, che conduce fino all'uomo, non si sarebbe mai potuta scrivere. I gruppi di unità d'informazione (geni), un tempo formati, sarebbero rimasti invariati per sempre, se non esistessero le mutazioni.

2.04 ... ma le mutazioni originano qualcosa di nuovo

Le mutazioni sono eventi molecolari

Le mutazioni sono cambiamenti stabili da un punto di vista ereditario. Gli individui generati dopo la comparsa di una mutazione sono "modificati" e si dicono "mutanti": nuovi organismi si sono prodotti. Ciò non significa che questi siano migliori dei precedenti; in ogni caso sono però *diversi*. Il principio conservativo è stato infranto.

Le mutazioni non sono molto frequenti; si è calcolato che può mutare 1 individuo su 10.000 fino ad 1 individuo su 10 milioni, secondo le specie. Quindi il rapporto di mutazione varia da 1 : 10.000 a 1 : 10.000.000, cioè da $1 : 10^4$ o 10^{-4} a $1 : 10^7$ o 10^{-7} . Con ciò s'intende il *rapporto di mutazioni spontanee*, e spontaneo significa in questo caso "senza causa esterna apparente". Tuttavia, se si pensa che una colonia batterica, quale può svilupparsi in 24 ore su di un terreno di coltura favorevole, raggiunge parecchi milioni di individui partendo da un unico germe, non appare allora più così improbabile che si manifestino casi di mutazione.

Il rapporto di mutazione può aumentare

considerevolmente con interventi sperimentali, talora fino a cento volte tanto. L'acido nitroso, ad esempio, è un agente mutageno (cioè provocatore di mutazioni) estremamente efficace. Si sa che esso può reagire direttamente con le basi dei nucleotidi, i quali formano, con la loro successione specifica, le unità d'informazione del DNA.

Così l'adenina (A), con la sostituzione di un aminogruppo, viene trasformata in ipoxantina (HX). D'altra parte l'ipoxantina non può più, come faceva l'adenina, appaiarsi con la timina, ma solo con la citosina. Una terna costituita dalla sequenza T-A-C può dunque essere trasformata in T-HX-C, che, nella replicazione secondo il meccanismo della cerniera lampo, dà origine ad una terna complementare A-C-G. Nella successiva separazione di questa doppia elica e nella connessa replicazione, A-C-G provoca l'accoppiamento secondo le regole con T-G-C; così, da una terna iniziale T-A-C si è ottenuto T-G-C. Mentre T-A-C codifica la metionina, T-G-C codifica la treonina; nella proteina per conseguenza verrà ora inclusa treonina al posto di metionina, provocando la formazione di un enzima modificato (vedi figura a p. 81).

Può senz'altro succedere che l'inserimento dell'aminoacido sbagliato avvenga in un sito d'importanza "trascurabile" della catena polipeptidica: in questo caso l'attività dell'enzima rimane invariata. Ma può altresì succedere che venga colpito un sito "importante" ed allora l'attività enzimatica può ridursi ed anche annullarsi, tanto che in determinate condizioni, se l'enzima ha una posizione chiave, il caso può essere letale.

L'acido nitroso desamina (così dicesi l'eliminazione di gruppi aminici) anche la guanina e la citosina (mentre la quarta base del DNA, la timina, non possedendo aminogruppi, non viene modificata). Con la guanina non si ottiene alcun effetto, in quanto la xantina che ne deriva si accoppia anch'essa con la citosina. Invece l'uracile che si forma dalla citosina si accoppia con l'a-

denina anziché con la guanina. In tal modo, con l'acido nitroso, si può mutare profondamente la sequenza delle basi, e quindi dei nucleotidi, e di conseguenza anche quella degli aminoacidi nelle proteine.

Risultati simili si ottengono col trattamento mediante idrossilamina, che altera la citosina del DNA. Questi esperimenti hanno apportato ulteriori notevolissimi contributi, hanno cioè dimostrato che realmente l'alterazione di *un'unica* molecola di citosina può provocare una mutazione. Lo stesso si potrebbe dire per gli altri agenti mutageni. Se vogliamo valutare in tutta la loro importanza le mutazioni e le loro conseguenze, dobbiamo prendere in considerazione ancora due punti:

1. Quando l'evento della mutazione interessa *uno solo* dei due filamenti complementari di DNA, con la successiva replicazione si ottengono per metà discendenti normali e per metà mutanti.

2. Con la desaminazione, che trasforma ad esempio A in HX, non si è ancora seguita una mutazione, ma solo una *pre-mutazione*. La mutazione vera e propria "si manifesta" solamente dopo la replicazione che segue la pre-mutazione.

Ma non è detto che debba sempre essere così! La pre-mutazione può "normalizzarsi", risanarsi o in qualche modo venire eliminata. Irradiando delle cellule con luce ultravioletta, si producono mutazioni particolarmente abbondanti (contemporaneamente molte cellule vengono anche uccise). In questo caso il processo di mutazione si svolge a carico (anche) della timina: in tutti i punti del filamento di DNA in cui due molecole di timina giacciono l'una accanto all'altra, viene provocata la loro riunione in un *dimero*, una molecola doppia che, da parte sua, determina un errato accoppiamento delle basi (dimero significa composto di due parti, come polimero significa composto di più parti). Ma se, dopo il trattamento con raggi ultravioletti, le cellule vengono esposte alla luce del giorno nor-

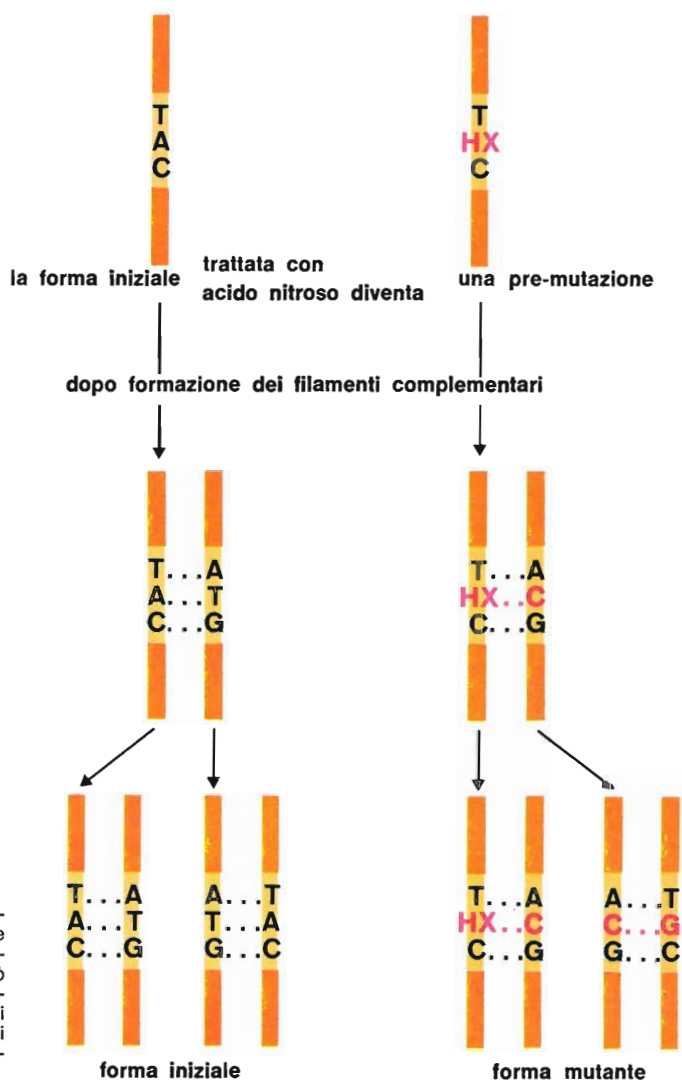
... ma le mutazioni originano qualcosa di nuovo

male, le pre-mutazioni in parte si rinormalizzano, ed il numero di mutanti (come anche la mortalità) diminuisce.

Questa inversione dell'effetto dei raggi ultravioletti ("reversione" = eliminazione di una pre-mutazione) è tra l'altro ottenuta da

un enzima particolare che elimina i dimeri di timina e può propriamente essere considerato un *enzima riparatore* (lo ritroveremo in seguito).

Non è il caso di enunciare tutte le numerose sostanze che possono provocare muta-



La variazione provocata artificialmente di un'unica base (in questo caso adenina trasformata in ipoxantina) può condurre ad una terna modificata (T-G-C al posto di T-A-C) ed all'inserimento di un aminoacido "errato" nell'enzima-proteina.

zioni; solo due di esse devono assolutamente essere citate, sia perché il loro modo d'agire è stato esplorato a fondo, sia perché concernono mutazioni a livello molecolare. Sono:

- a) gli analoghi delle basi
- b) le acridine.

a) Gli analoghi delle basi sono basi azotate talmente simili a quelle utilizzate normalmente per la fabbricazione del DNA che le cellule, o gli enzimi, le confondono e le incorporano al posto del costituente normale. Se ne distinguono solo leggermente per la disposizione, o eventualmente per la stabilità, degli atomi di idrogeno; sono quindi predisposte ad accoppiamenti errati.

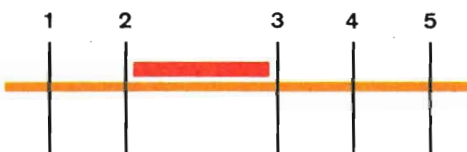
Sia citato come esempio il bromuracile (BU), che può essere scambiato con la timina. Differisce dall'uracile normale, che compare solo nell'RNA, in quanto possiede un atomo di bromo al posto di uno d'idrogeno sul quinto atomo di carbonio (sarebbe fuori luogo l'indicazione di altre particolarità). Ne consegue una maggiore "labilità" dei legami degli atomi d'idrogeno rimasti. E fin qui nulla di nuovo, perché il comune BU (detto forma chetonica) si accoppia regolarmente con l'adenina, esattamente come fa la timina: $T \rightarrow A$ equivale a $BU \rightarrow A$. Tuttavia quando il BU passa dalla forma chetonica a quella "enolica" (BU^*), si appaia allora con la *guanina*. Ne risulta che al posto di $T \rightarrow A$ viene replicato $BU^* \rightarrow G$ e che nel DNA ad ogni A è sostituito G, con la conseguenza che la sequenza dei codoni è completamente cambiata.

b) Le acridine sono sostanze che hanno un'intelaiatura molecolare costituita sempre da tre anelli contigui; si distinguono unicamente per i gruppi laterali attaccati a questo scheletro di base. Alle acridine appartengono sostanze coloranti come l'acriflavina, e l'arancio acridina, e anche veleni cellulari o farmaci come la tripaflavina, l'atebri-
na e il rivanolo. Le acridine reagiscono con i gruppi fosforici, anche con quelli del DNA,

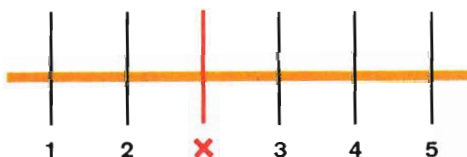
cioè tendono ad inserirsi tra due di essi. Questi due gruppi fosforici vengono così distanziati l'uno dall'altro. Se la loro distanza prima era di 3,4 Å, ora è diventata di 6,8 Å: si è esattamente raddoppiata.

A questo punto abbiamo due possibilità. Nel primo caso l'acriflavina si colloca in un filamento matrice di DNA, che si appresta a fabbricare il suo filamento complementare. Nella sequenza di basi del filamento matrice compare così una lacuna che corrisponde esattamente al posto di una base. Durante la formazione del filamento complementare questo posto vuoto viene occupato da una nuova base supplementare, detta "base aggiunta".

Nel secondo caso l'acriflavina non si inserisce nel filamento matrice, ma nel *filamento complementare* mentre questo viene fab-



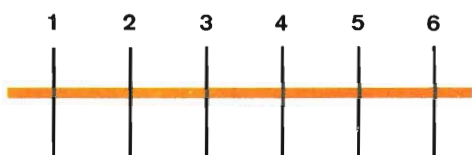
Filamento matrice di DNA con l'acriflavina inserita.



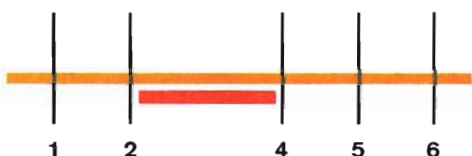
Filamento complementare di nuova formazione con "base aggiunta" X. Questa è la forma che continuerà a replicarsi.

bricato (vedi figura a p. 83). E siccome l'acriflavina non può accoppiarsi con nessuna base, in un certo senso "maschera" la base antistante del filamento matrice. Con la successiva (seconda!) replicazione mancherà perciò la base corrispondente a quella mascherata: si è avuta la "delezione".

... ma le mutazioni originano qualcosa di nuovo

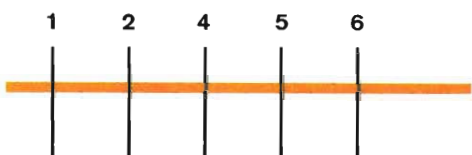


Filamento matrice.

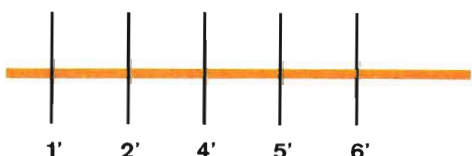


Filamento complementare con una molecola di acriflavina incorporata.

ne" di una base. Nella seconda replicazione succede quanto segue:



Qui manca la base n. 3 e così in tutte le ulteriori repliche.



Tutte e due le volte le conseguenze sono più gravi che nel caso del bromuracile o del trattamento a raggi ultravioletti, perché dal sito di inserimento della base aggiunta, o rispettivamente di delezione di una base, in poi, tutte le terne risultano diversamente composte, e lo schema di lettura sconvolto. Per meglio mettere in evidenza il ritmo del conteggio a gruppi di tre, indichiamo le basi costituenti una terna con A, B e C. Supponiamo di avere la sequenza regolare

A B C A B C A B C...

Se è inserita una base aggiunta (caso 1), ad esempio una **B** dopo le prime due basi, la nuova sequenza sarà

A B B C A B C A B C...

Dopo la **B** i gruppi da tre non saranno più conteggiati come A B C, ma come C A B. Nel caso di delezione (perdita) di una base (caso 2) avremo:

A B C A B C A B C...
A B A B C A B C A...

Le terne, dopo la prima, non si leggeranno più A B C, ma B C A. Le proteine che ne derivano dovrebbero essere entrambe inutilizzabili per la cellula.

Questi esempi dimostrano che certe mutazioni possono essere considerate *eventi a livello molecolare*. Un cambiamento talvolta esiguo nella struttura molecolare conduce ad enzimi-proteine modificati e persino inattivi. Questi eventi potrebbero dirsi addirittura "mutazioni puntiformi".

Accanto a queste esistono evidentemente anche alterazioni più profonde. Trattando molto intensamente cellule di organismi superiori, cioè nucleate, con raggi X o ultravioletti, si possono frantumare cromosomi interi o "colpirne" piccole porzioni che vanno poi perdute nella mitosi successiva. Certe fratture possono anche rimarginarsi, oppure i frammenti possono unirsi a cromosomi sbagliati (talvolta, per di più, "alla rovescia"). In questi casi, detti *mutazioni cromosomiche*, le modificazioni si estendono naturalmente a tratti molto più lunghi di DNA, o se si vuole di cromosomi, di quanto avvenga nelle mutazioni puntiformi. Ma alla fin fine si tratta pur sempre di modificazioni della compagine molecolare. Soffermiamoci un istante a considerare quanto sappiamo ora sulle mutazioni. Le mutazioni sono eventi molecolari: d'accordo, ed abbiamo anche modo di "spiegarle"; ma perché tante complicazioni? Sperimentando con le mutazioni si ottengono per lo più

soltanto deterioramenti, come la diminuzione dell'attività di certi enzimi o la loro totale inattivazione (per non dire dei casi mortali che sono bellamente definiti *mutazioni letali*). E se nei mutanti spontanei tutto si svolgesse nello stesso modo — come molti fatti confermano — il superamento del principio conservativo sarebbe dunque solo accompagnato da difetti o perdite? Se si pensa che devono persino esistere enzimi riparatori, le mutazioni non sembrerebbero altro che incidenti possibilmente da evitare o ai quali si deve rimediare al più presto. Dobbiamo proprio parlare allora di un *principio* che tende ad infrangere il comportamento conservativo?

Anche qui l'apparenza sovente inganna. Effettivamente le mutazioni artificiali conducono quasi sempre alla perdita di una proprietà o di una caratteristica. Se si provocano mutazioni, ad esempio, in un batterio come *Escherichia coli*, si può in determinate circostanze ottenerne una forma che ha perduto la capacità di fermentare il lattosio, che è diventata *lac⁻* (lac meno o lac negativa), mentre la forma originaria, "selvatica", era *lac⁺* (lac è l'abbreviazione del termine inglese *lactose*). Per l'*Escherichia coli* questo non è certo un vantaggio. Lo stesso può dirsi di molte altre caratteristiche, anche nel caso di mutazioni spontanee. Sorprende perciò l'affermazione di rispettabili ricercatori, secondo cui si dovrebbe persino ammettere l'esistenza di *enzimi mutageni*, i quali attaccherebbero direttamente il DNA per provocare mutazioni. Se le mutazioni comportassero sempre e solo delle minorazioni, il possesso di simili enzimi mutageni sarebbe addirittura un pericolo per la vita, gli organismi suicidi contenenti tali sostanze sarebbero in breve eliminati!

Non tutti i mutanti sono regressivi

Citiamo un esempio: tutti sanno che la penicillina e la streptomicina uccidono certi

batteri. Le forme selvatiche normali di questi batteri, come *E. coli*, sono perciò streptomicino(S)-sensibili e sono indicate con *S^s*. Se una sospensione di questi batteri sensibili viene trattata con radiazioni o con sostanze mutagene e viene poi "seminata" su di un terreno nutritivo contenente streptomicina, non dovrebbero comparire colonie di batteri, data l'azione mortale della streptomicina. Tuttavia, anche se in percentuale molto piccola, qualche colonia compare. Esaminandola attentamente si è appurato che nella zona di crescita non è mancata per caso della streptomicina, ma che le cellule di queste colonie sono diventate *ereditariamente resistenti* alla streptomicina, cioè streptomicino-*resistenti* (*S^r*). Questi casi sono assai frequenti, e la medicina lamenta che con l'uso sconsigliato di antibiotici vengano addirittura "allevate" forme resistenti contro le quali, nel caso più favorevole, si dovranno usare antibiotici nuovi e di altra natura. Evidentemente le forme *S^r* non sono state ottenute intenzionalmente, sono comparse come una mutazione molto più favorita nelle *probabilità di sopravvivenza* della forma imparentata sensibile. Se ne deduce che queste mutazioni, estremamente spiacevoli per ammalati e medici, sono *vantaggiose*, e in modo determinante, per i batteri.

Non soffermiamoci ora sulla considerazione che l'acquisto della resistenza alla streptomicina è una mutazione più complessa di quelle fin qui descritte; in questo caso ci interessano solo gli effetti, e qui l'effetto è stato chiaramente dimostrativo. Non si può perciò dire sempre che alla perdita di una proprietà corrisponda un reale svantaggio, come quando alla "perdita della streptomicino-sensibilità" si accompagna la comparsa della streptomicino-resistenza.

Le mutazioni possono fornire vantaggi, non fosse che in rapporto ad una situazione ambientale ben definita. La forma *S^r* è superflua quando non esiste streptomicina, e

sotto un certo aspetto può anche considerarsi svantaggiata. Ma in presenza di streptomycin solo le forme resistenti sopravvivono, mentre le sensibili periscono. Perciò è interesse degli organismi infrangere il rigido principio conservativo e promuovere mutazioni. Anche se molte di esse saranno insignificanti, dannose o persino letali, qualcuna utile capiterà sempre. La costituzione originaria è stata modificata, sono comparse nuove varietà, ne derivano nuove possibilità di miglioramento. Stando così le cose, l'esistenza (per ora solamente ipotetica) di enzimi mutageni sembra logica ed opportuna. E così si spiega anche la presenza nei geni, o in una doppia elica di DNA, di zone particolarmente predisposte alle mutazioni, dette in inglese *hot spots*, alla lettera "macchie o punti caldi". Qui le mutazioni compaiono molto più di frequente che nelle altre zone dello stesso gene o della stessa doppia elica di DNA (vedi oltre a p. 101). Se mutare, o meglio essere mutati, fosse così pericoloso, certamente questi punti caldi sarebbero già stati eliminati dalla selezione nel corso dell'evoluzione.

Darwin, i mutanti e la selezione

Selezione: abbiamo pronunciato la sola parola che permetta di comprendere l'intero significato delle mutazioni. Un'evoluzione della specie, una *filogenesi*, non è concepibile con il principio conservativo, con la costanza della specie, ma soltanto con il prorompente principio della *selezione dei mutanti*. I mutanti, sia spontanei sia artificiali (dov'è il limite?), costituiscono il materiale per l'ascesa del processo evolutivo. I mutanti meno vitali, meno bene adattati, ed anche forse le forme iniziali, costruite meno perfettamente, sono sopraffatti dai pochi individui avvantaggiati, sempre presenti nella "rosa o spettro dei mutanti". Questi vengono prescelti, selezionati, come "meglio adattati"; sopravvivono e conducono

ad un adattamento sempre migliore, ad una maggiore diversificazione, ad una più alta organizzazione.

Questo vale per il mondo dei batteri come per l'uomo. « Anche l'uomo è un risultato di questa comparsa e cernita di mutamenti durata molti milioni di anni » scrisse il microbiologo e genetista Kaplan di Francoforte. La teoria della selezione dei mutanti, esposta da Darwin poco più di cento anni fa, si è dimostrata oggi un principio valido per tutto il mondo vivente. Il nostro unico vantaggio su Darwin è solo ed esclusivamente la conoscenza degli intimi processi, che impariamo a padroneggiare sempre meglio, posti alla base del fenomeno.

Variazione e scelta si ritrovano, con esatta corrispondenza, nell'*ontogenesi*, cioè nello sviluppo individuale di ogni essere vivente, soprattutto nell'uomo. Si osserva facilmente sia sui bambini sia sul cane di casa. Quando sorge un problema vengono "provate" le possibilità per risolverlo; se un piatto colmo di frutta viene posto sull'alto di un armadio perché i bambini non possano metterci le mani, questi naturalmente tenteranno di raggiungerlo ugualmente. Il braccio disteso è troppo corto, non funziona; anche saltare non serve; un braccio prolungato da un bastone è sempre ancora troppo corto, dato che il piatto è arretrato rispetto al bordo dell'armadio. Una sedia non basta, i bambini ne provano due, ma la seconda è traballante e provoca quasi un capotombolo. Alla fine non resta che la scala, che la prossima volta sarà la prima ad essere usata. Il bambino ha variato e provato i mezzi ed ha alla fine scelto il più idoneo.

Tutto quanto si è detto nel banale esempio precedente vale alla fin fine per ogni comportamento e per ogni attività intellettuale creativa. Variare, provare e scegliere per giungere al successo sono momenti cruciali anche nello sviluppo individuale. Fortunato colui che possiede sufficiente fantasia per immaginare sempre nuove variazioni!

2.05 La riproduzione sessuale

Fecondazione e meiosi

Nel corso della filogenesi le mutazioni hanno cooperato attivamente alla formazione di organismi con nuove caratteristiche, ma da sole non sono molto efficaci. Infatti un mutante trasmette le nuove caratteristiche acquisite solo mediante il principio conservativo della mitosi, cioè della separazione di una doppia elica. Da un punto di vista statistico, pur tenendo conto della scarsità delle mutazioni spontanee, non dovrebbe passare molto tempo prima che una cellula mutata muti una seconda volta; però, se teniamo in considerazione la ripartizione casuale di mutazioni favorevoli e svantaggiose, deve trascorrere un periodo molto lungo prima che compaia una seconda mutazione che sia nuovamente, e unitamente alla prima, favorevole, cioè prima che si trovino riuniti nello stesso individuo, nei confronti del ceppo originario, due nuovi caratteri con "valore di selezione" positivo. Molto più efficace a questo scopo è un procedimento che permetta ai substrati ereditari, ai geni, all'informazione di *mescolarsi* e di *combinarsi* poi in modo diverso, di attuare così una *mescolanza* ed una *ricombinazione*. Si tratta in breve dell'introduzione della sessualità, o della organizzazione di sistemi sessuali (dato che ne esistono diversi).

Un sistema sessuale manifesta la sua attività in due tempi, sia negli unicellulari sia negli organismi più altamente evoluti. Durante il primo si effettua *la riunione dei patrimoni ereditari di due individui differenti*, durante il secondo si compie *la riduzione del patrimonio ereditario raddoppiato per riportarlo alla consistenza normale*. Il secondo tempo è una conseguenza del primo, perché i substrati ereditari dei due individui non si fondono insieme, ma rimangono l'uno accanto all'altro. Se questi organismi "doppi" dovessero riunirsi nuovamente, sen-

za previa riduzione, otterremmo un substrato ereditario quadruplicato, e si raggiungerebbero con l'andar del tempo cifre iperboliche.

La riduzione del patrimonio ereditario si può attuare per vie diverse; ci occuperemo dapprima del meccanismo governato da un ordine più rigoroso, cioè della divisione riduzionale dei vecchi libri di testo, oggi detta più semplicemente *meiosi*. I sistemi sessuali in cui compare si dicono *sistemi meiotici*. Significativo il fatto che il nome le era stato dato in riferimento al secondo tempo del processo sessuale, cioè a quello della riduzione, e non in riferimento al primo, che invece è comunemente considerato l'unica espressione della sessualità in quanto unione degli individui generanti, o delle cellule sessuali nella fecondazione. Un processo sessuale è completo solo con fecondazione e meiosi: la meiosi è il momento culminante per la filogenesi!

Dobbiamo approfondire questo fenomeno e possibilmente le sue basi molecolari, perché qui si compie la trasmissione dei caratteri ereditari *per via sessuale*. Con la meiosi non sono riprodotti, come nella generazione asessuale (che si compie con la mitosi), discendenti perfettamente identici, ma discendenti un po' "diversi", i quali, a cagione della suddetta ricombinazione, non sono uguali né ai genitori né tra di loro.

Meiosi, o sistemi meiotici, non esistono nei batteri ed in altri organismi privi di nucleo, il cui genoma sia costituito da un'unica elica di DNA; esistono solamente in organismi che abbiano cromosomi facenti parte di un vero nucleo. La fecondazione, che costituisce il primo tempo del sistema meiotico, consiste di regola nella riunione di due cellule diverse (elementi sessuali). Esse riescono ad incontrarsi

- a) perché sono mobili;
- b) perché secernono speciali sostanze di adescamento, senza le quali l'incontro sarebbe lasciato al caso.

Queste cellule germinali, o *gameti* (dal greco *gametes* = coniuge) possono avere anche un aspetto esterno perfettamente identico: sono detti allora *isogameti* (dal greco *isos* = uguale); tuttavia possiedono piccole differenze nel loro patrimonio ereditario, e vengono perciò definiti gameti + (più) o — (meno). In altri casi, di vegetali o di animali, i due gameti che si fecondano hanno aspetto diverso: allora i più grandi sono detti *macrogameti*, o anche gameti femminili, i più piccoli, *microgameti*, o gameti maschili. Il più delle volte, però, una delle due cellule germinali è diventata esageratamente grande e rimane immobile: si tratta della *cellula uovo*, che ora giustamente è detta femminile, mentre l'altra, rimasta mobile, costituisce il gamete maschile, detto *spermatozoide*, o *cellula seminale*. Nella maggioranza delle piante con fiori, ma anche in molti funghi, la mobilità di entrambe le cellule germinali è talmente ridotta che la cellula uovo non è più fecondata da un gamete maschile in movimento, ma solamente da un nucleo maschile. Le cose però non cambiano, o cambiano poco. Infatti il risultato determinante di una fecondazione è senz'altro solo la fusione dei *nuclei*, almeno per quanto riguarda la trasmissione genetica dell'eredità. Il prodotto della fecondazione, cioè la cellula uovo fecondata o *zigote*, possiede ora un nucleo derivato dall'unione del proprio nucleo con quello maschile immigrato.

Il termine "fusione" può a rigore ingannare. Infatti, per quanto riguarda l'ereditarietà, i portatori del substrato ereditario sono i cromosomi, e questi assolutamente non si fondono insieme. Al contrario, i cromosomi materni e paterni rimangono ben separati gli uni dagli altri all'interno della membrana nucleare che tutti li avvolge. Perciò lo zigote possiede un numero di cromosomi doppio della cellula uovo non fecondata, possiede due *corredi cromosomici* o due serie di cromosomi, due genomi: è, come

si dice, *diploide*, mentre il gamete maschile e l'uovo non fecondata, avendo una serie sola di cromosomi, erano *aploidi*.

2.06 La meiosi ha delle conseguenze

Le vecchie strutture vengono riordinate

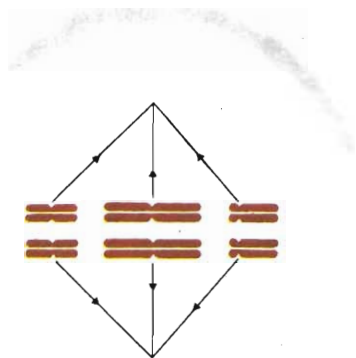
Molti organismi limitano la loro fase diploide d'esistenza unicamente allo stadio di zigote, il che vuole dire che, già alla prima divisione di questo zigote, si compie una meiosi. Questa ristabilisce la condizione aploide. Se tutto l'effetto della meiosi consistesse, come si credeva un tempo, soltanto nella riduzione del numero dei cromosomi (di qui l'antico nome di "divisione riduzionale"), non si capirebbe allora il significato di tutto questo processo. Perché tante complicazioni? A che cosa servirebbero la formazione delle cellule germinali in particolari ghiandole, lo sviluppo di organi copulatori anatomicamente così differenziati, lo sfoggio di complicati comportamenti nuziali, eccetera, se non succedesse altro che una riunione temporanea di due serie di cromosomi in una sferetta, con successiva immediata separazione, cioè se dallo zigote non dovesse derivare nulla di diverso da quanto vi fu immesso?

È vero quindi che il risultato della riduzione nella meiosi è necessario per produrre cellule germinali aploidi atte alla fecondazione, ma alla fin fine si tratta soltanto di una modalità meccanica. Almeno altrettanto importanti sono due altri risultati:

- riordinamento del genoma;
- ristrutturazione dei cromosomi (ricombinazioni).

Quali modificazioni deve subire la meiosi rispetto alla mitosi per ottenere questi tre risultati?

Il particolare che sta alla base di tutto è questo: nella meiosi, quando i cromosomi



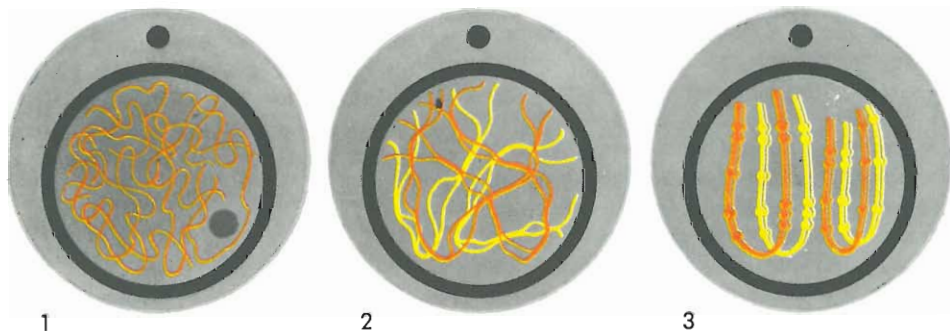
Durante la meiosi, nella piastra equatoriale, i cromosomi non sono singoli, ma sono accoppiati.

si trovano nella piastra equatoriale, non sono singoli ed isolati, ma *appaiati*. Di qui deriva tutto il resto, ma per capirlo esattamente dobbiamo incominciare dal principio. Dobbiamo partire dal presupposto che solo le cellule diploidi possono dividersi per meiosi, quelle aploidi mai. D'altra parte la

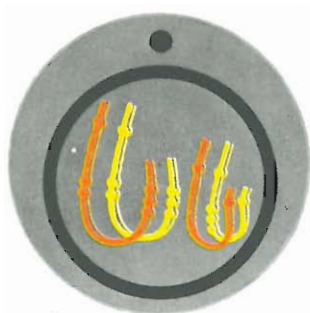
parola diploide significa che sono presenti nel nucleo due serie di cromosomi: ad esempio, anziché 3 cromosomi (dello stato aploide) il nucleo cellulare contiene 2×3 cromosomi. In altre parole ogni cromosoma è presente in duplice copia: uno proviene dalla madre, l'altro dal padre. Questi cromosomi corrispondenti sono anche detti *omologhi*.

L'inizio della meiosi assomiglia alla profase della mitosi. Nel contenuto nucleare, che prima si colorava in modo diffuso, incominciano a differenziarsi i cromosomi; dapprima si tratta di filamenti molto sottili — di qui il nome di *leptotene* attribuito a questo stadio (dal greco *leptòs* = fine, sottile) — ma poi progressivamente essi ingrossano e si accorciano (non sappiamo come).

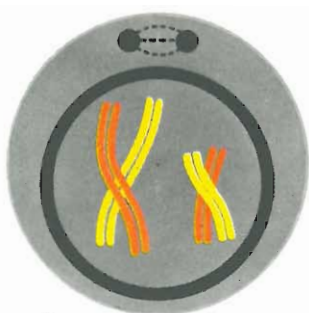
All'inizio questi cromosomi sono sempre ancora mescolati disordinatamente, ma la situazione cambia poco dopo. Nella fase successiva, detta *zigotene* (dal greco *zygòs* = giogo), si può già riconoscere il fenomeno caratteristico della meiosi, cioè l'*appaiamento* (coniugazione) dei filamenti cromosomici a due a due. Dapprima si appaiano soltanto singoli tratti di questi filamenti, ma più tardi, durante quello che vien detto *pachitene* (dal greco *pachys* = spesso), i filamenti



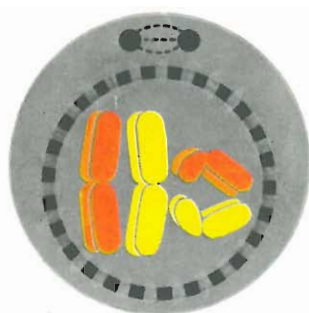
Fasi della meiosi: 1, 2 leptotene; 3, 4 zigotene; 5, 6 diplotene; 7 anafase; 8, 9 seconda divisione.



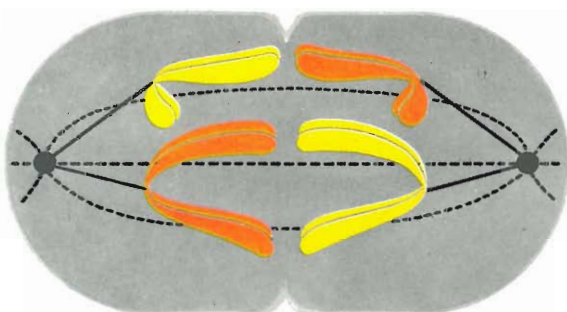
4



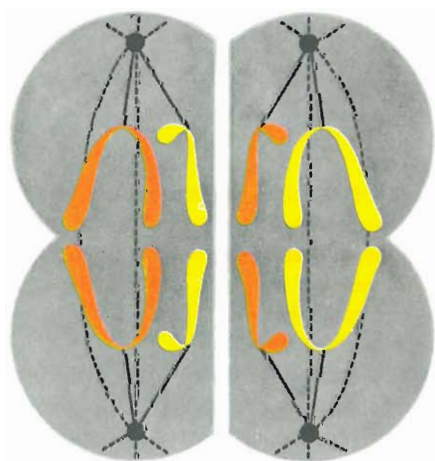
5



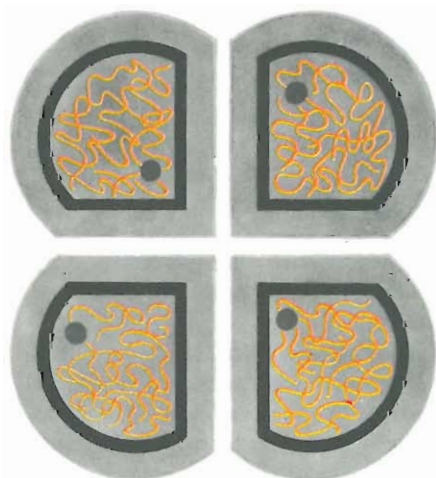
6



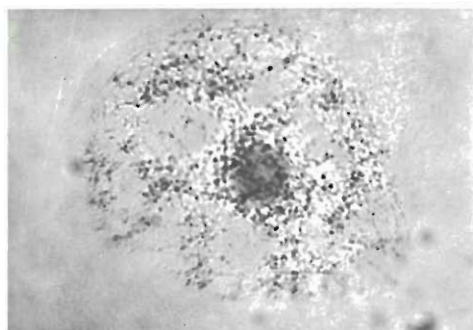
7



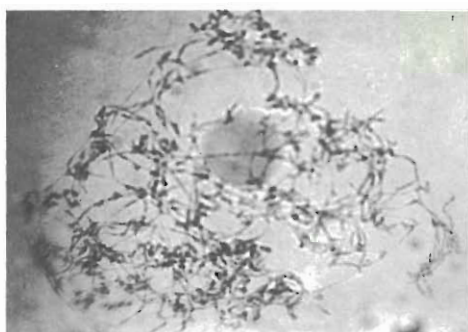
8



9



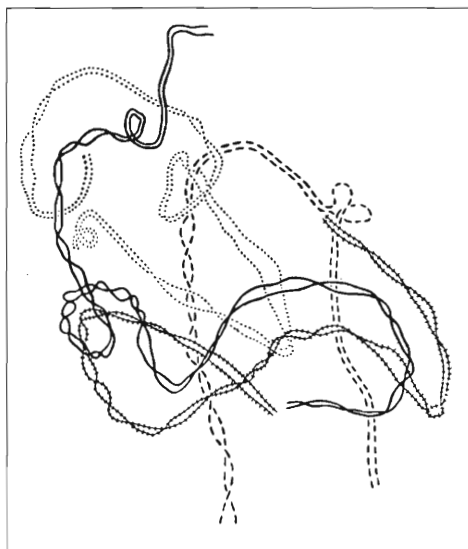
1



2



3



3 a

interi. Questi filamenti, cioè i cromosomi — come è messo bene in evidenza nelle microfotografie — anche durante lo stesso pachitene non sono mai così corti e tozzi come nella mitosi.

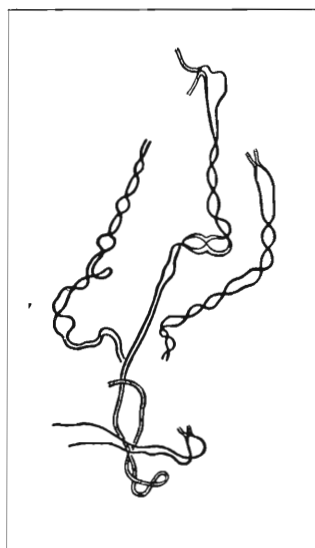
Osservando attentamente si nota che i cromosomi appaiati sono sempre e solo quelli *omologhi*; hanno le stesse dimensioni, si colorano nello stesso modo, sia regolarmente, sia irregolarmente; in poche parole, tutti i

punti identificabili morfologicamente si ritrovano, combaciando con esattezza, nei due cromosomi omologhi. Perciò nel pachitene, in luogo, ad esempio, dei tre cromosomi delle cellule germinali aploidi, notiamo tre *paia* di cromosomi.

Nel successivo *diplotene* (dal greco *diploos* = doppio) cessa la coniugazione, ed i cromosomi fin qui appaiati si separano l'uno dall'altro. Contemporaneamente subiscono



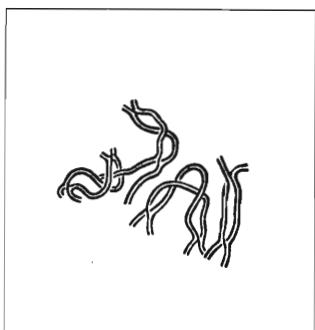
4



4α



5



5α

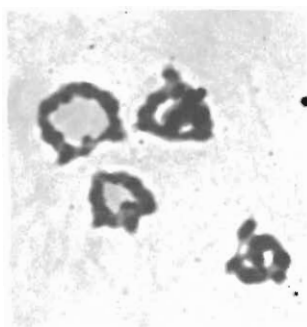
Fasi della meiosi: 1 nucleo a riposo; 2 leptotene; 3 zigotene; 4 diplotene; 5 tardo diplotene; 6 diacinesi; 7 inizio dell'anafase; 8 telofase; 9 preparazione alla seconda divisione.

un notevole accorciamento. Quando la membrana nucleare si sarà dissolta, avremo raggiunto lo stadio della *diacinesi* (dal greco *dià* = attraverso e *kinesis* = movimento); la profase della meiosi è terminata; è seguita da metafase ed anafase in modo simile a quanto avviene nella divisione mitotica². La telofase evidentemente si abbozza appena; subito dopo l'arrivo dei cromosomi ai rispettivi poli, inizia per ciascuno dei due

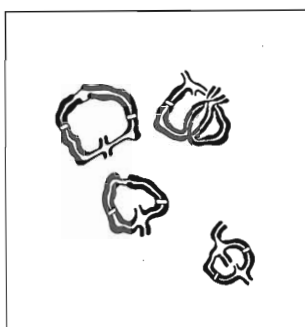
gruppi una *mitosi* regolare. I cromosomi si fendono longitudinalmente in due cromatidi ciascuno; alla fine avremo quattro nuclei, ciascuno con una sola serie di cromosomi, e perciò aploidi.

Solo a questo punto si riformano una membrana nucleare e nuove pareti cellulari, cosicché, alla fine della meiosi, le cellule (aploidi) sono quattro.

Queste vengono comunemente dette *gonii*,



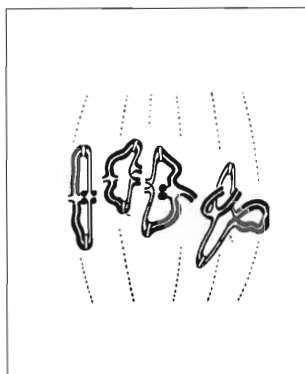
6



6a



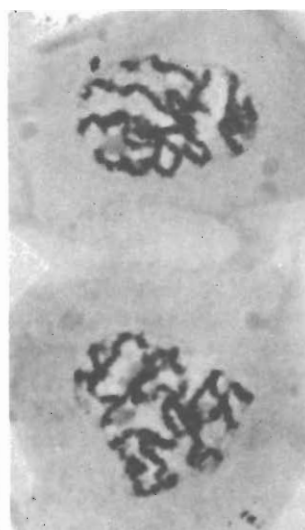
7



7a



8



9

in altri casi invece *tetraspore* (dal greco *tetra* = quattro); da qui deriva l'espressione usata talvolta per definire la meiosi: *divisione con formazione di tetradi*³.

Questa prima descrizione della meiosi, anche se molto sommaria, mostra come possa attuarsi una riduzione del numero di cromosomi. Ma che cosa si può dire degli altri due effetti della meiosi?

Secondo effetto della meiosi: il riordinamento del genoma

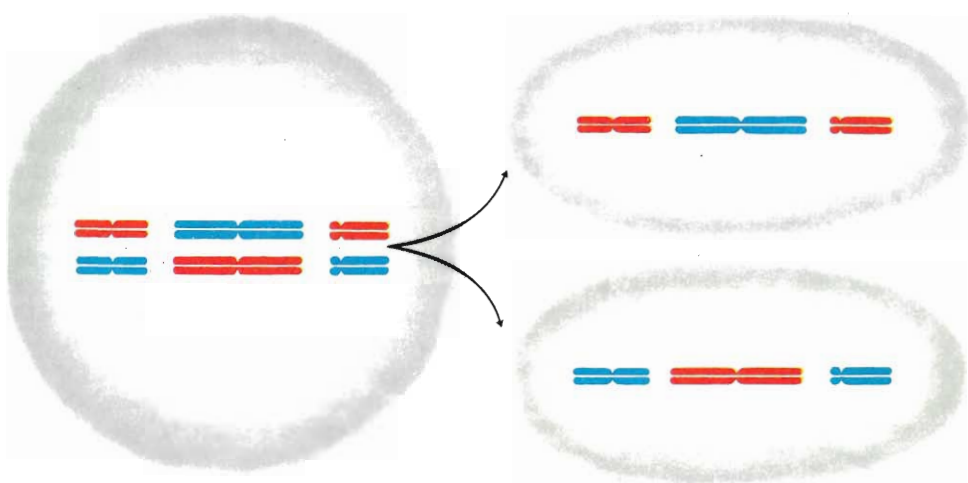
Rinunciamo per ora a porci la domanda, tuttora senza risposta, di come i cromosomi omologhi riescano sempre a ritrovarsi, e limitiamoci a prendere atto della loro coniugazione. Una cosa è certa: nell'estrema confusione che regna tra i cromosomi durante il leptotene, difficilmente può capitare che i cromosomi appaiati si ordinino e si orientino in modo che tutti i cromosomi paterni siano situati da una parte e quelli materni dall'altra, e che in uno dei nuclei di nuova formazione si trovino *solamente i cromosomi paterni* e nell'altro *solamente i cromosomi materni*. Nella realtà questa distribuzione dei cromosomi è *casuale*. Per semplificare, immaginiamo che un nucleo figlio si formi "sopra" e l'altro "sotto", e che le coppie

di cromosomi abbiano uno dei due componenti rivolto verso l'alto, l'altro verso il basso. Non vi sono dispositivi o regole precise che determinino quale dei due cromosomi della coppia, paterno o materno, venga a trovarsi nella posizione superiore o inferiore, la quale dipende dalla situazione più o meno casuale dei due "compagni" fin dal periodo che precedeva la meiosi. Perciò la probabilità che due paia vicine di cromosomi si trovino "orientate" nello stesso modo è del 50 %, ed equivale alla probabilità che le due coppie siano disposte in modo inverso.

Il risultato di questa distribuzione casuale dei cromosomi è che solo assai raramente i genomi materni e paterni finiscono con l'esser assortiti esattamente come prima; ne consegue che i gonii derivanti dalla meiosi sono molto di rado identici alle cellule germinali che a suo tempo si erano unite per formare lo zigote. È molto più frequente invece il caso di gonii che ricevono cromosomi parte di origine paterna e parte

di origine materna. Ad esempio, in una cellula avente allo stato aploide 3 cromosomi, generalmente due dei quattro gonii contengono 1 cromosoma paterno e 2 materni, e gli altri due gonii, inversamente, 2 cromosomi paterni ed 1 materno.

In tal modo i cromosomi sono distribuiti *in maniera diversa* (da quella di partenza), e formano *nuove combinazioni*. Dato poi che i cromosomi maschili e femminili non possiedono quasi mai esattamente gli stessi geni, in questo modo possono finire col trovarsi raggruppati in uno stesso nucleo dei geni che prima della fecondazione si trovavano in nuclei (genomi) diversi: il *complesso dell'informazione è cambiato*. A dire il vero, in questo modo non vengono riordinati *singoli* geni, ma come si è visto interi cromosomi = assieme concatenati, mentre i geni facenti parte di un determinato cromosoma rimangono insieme. Tuttavia il genoma è stato riordinato in modo diverso, conseguendo così il secondo scopo della meiosi.



Nella meiosi i genomi materni e paterni (indicati con colori diversi) solo raramente sono ricomposti tali e quali; molto più sovente i discendenti contengono in parte cromosomi paterni ed in parte materni. I genomi sono stati riordinati.

Terzo effetto della meiosi: ristrutturazione dei cromosomi

Abbiamo detto di aver semplificata l'esposizione della meiosi in modo eccessivo. Infatti, per comprenderne il terzo effetto, tale schema non è più sufficiente; dobbiamo renderci conto che la realtà è molto più complessa. Fin qui siamo rimasti nel campo delle cose visibili, ma ormai dobbiamo inoltrarci nell'ambito delle dimensioni molecolari.

Risaliamo ad un'osservazione già citata in riferimento alla mitosi: i cromosomi hanno una fenditura longitudinale e formano due cromatidi fin dalla profase. Lo stesso avviene anche nella meiosi fin dal leptotene. Ciò significa che nello zigotene non si appaiono semplicemente due cromosomi interi (uno di origine maschile, l'altro di origine femminile), ma già 4 cromatidi (due maschili e due femminili). Ogni coppia di cromosomi è in realtà una *tetrade* di cromatidi appartenenti a due a due ad un cromosoma (vedi N.d.T. n. 2 a p. 135).

Se la coniugazione e la successiva separazione dei cromosomi (zigotene e diplotene) avvenisse senza un qualche scambio tra i due elementi che si coniugano, il tutto non avrebbe molto senso e l'effetto finale della meiosi non avrebbe quindi grandi conseguenze. In effetti non è così. Proprio durante il diplotene si possono osservare al microscopio degli incroci, detti *chiasmi* (dal greco *chiasma* = croce): sono precisamente i *cromatidi* che si incrociano. La figura qui sotto mostra lo schema di uno di questi chiasmi.

Tutto avviene *come se* due cromatidi (cia-

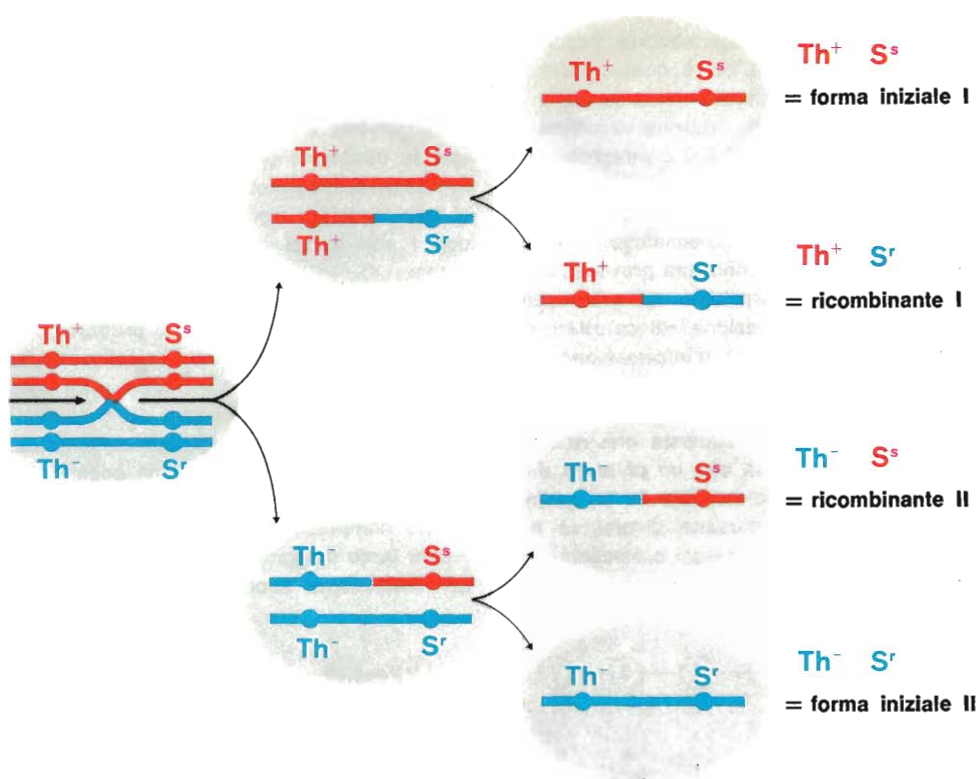


Le estremità di due cromatidi si ricongiungono in modo "sbagliato": formazione di un chiasma.

scuno appartenente ad un cromosoma diverso della coppia) si fossero spezzati in punti corrispondenti e ciascuna delle estremità di rottura si fosse ricongiunta "erroneamente" con quella dell'altro cromatide. Vedremo subito che la comparsa e la saldatura di queste fratture accade molto prima della fase diplotene. Ciò non cambia nulla alla circostanza che tra cromosomi omologhi siano stati scambiati dei pezzi; dopo la formazione dei chiasmi i cromatidi non sono più di origine "puramente maschile" o "puramente femminile", ma risultano composti da segmenti provenienti dalle cellule germinali sia maschili sia femminili.

Per i discendenti, cioè per i gonii e quindi anche per gli organismi che si sviluppano dai gonii, tutto ciò è molto importante. Lo schema della figura a p. 95 rappresenta il caso più semplice in cui si forma un unico chiasma in un'unica coppia di cromosomi, rimanendo intatti tutti gli altri cromosomi. I 4 gonii ora risultano ben diversi! Solo il primo (le lettere non interessano per il momento) porta il cromosoma materno inalterato ed il quarto quello paterno, pure inalterato, il secondo ed il terzo gonio invece possiedono cromosomi composti da frammenti in parte di origine paterna in parte di origine materna, ma non sono identici, bensì "complementari". Uno, il secondo ad esempio, contiene il frammento paterno che manca al terzo, e viceversa gli ha ceduto un suo frammento materno corrispondente. Come esempio pratico di questo schema scegliamo un fungo facile da allevare e che si riproduce rapidamente. Si tratta della muffa *Neurospora crassa*, affine alla *Neurospora sitophila*, la "muffa arancione del pane" che si annida nelle panetterie. Questa *Neurospora crassa* è utilizzata — e con successo — in esperimenti di riproduzione. Se prendiamo la sua forma normale (selvatica), questa è timino-positiva (Th^+ , cioè può sintetizzare da sé sola la timina) e streptomycin-sensibile (S^s). È un esempio piuttosto artificiale, ma ha il vantaggio di usare mu-

La meiosi ha delle conseguenze



Anche un solo *crossing-over* provoca, con la ristrutturazione di un cromosoma, nuove combinazioni del substrato ereditario.

tanti che già conosciamo. Da questa forma selvatica, mediante un'eventuale azione di acido nitroso, possiamo ottenere mutanti a due fattori. Essa in primo luogo diventa incapace di sintetizzare la timina (Th^- , cioè timino-negativa), che perciò deve esserle fornita; ed il gene corrispondente è situato sul braccio sinistro del nostro cromosoma. In secondo luogo diventa pure streptomicina-resistente (S^r) con il gene situato sull'estremità di destra.

Se ora incrociassimo il mutante a due fattori con la forma iniziale e se *non* si producessero chiasmi, si otterrebbero sempre e solo, come discendenti, le forme di par-

tenza, cioè quella selvatica ed il mutante a due fattori. I geni mutati rimangono sempre insieme, dato che appartengono allo stesso cromosoma. Essi cioè fanno parte di uno stesso *gruppo concatenato* o, come si suol dire più semplicemente, sono concatenati (normalmente un gruppo concatenato si identifica con un cromosoma). Lo stesso vale evidentemente per i geni non mutati della forma selvatica.

Il risultato è diverso se nel tratto compreso tra i siti dei due geni si forma un chiasma; in tale caso tra i discendenti troveremo: un tipo selvatico ($Th^+ S^s$)
un mutante a due fattori ($Th^- S^r$)

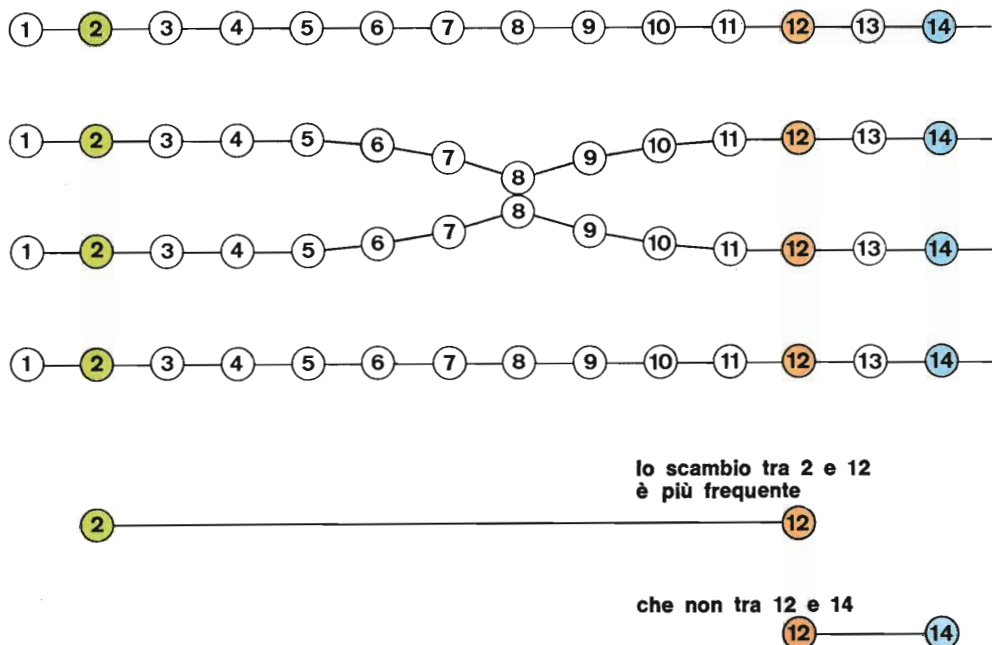
un $\text{Th}^- \text{S}^s$ — a questo occorre l'aggiunta di timina ed è contemporaneamente streptomomicino-sensibile

un $\text{Th}^+ \text{S}^r$ — questo fabbrica la timina da sé e per di più è streptomomicino-resistente; perciò è molto più favorito del tipo selvatico che è streptomomicino-sensibile.

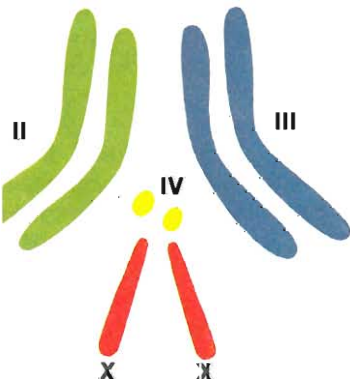
La formazione di un chiasma provoca, attraverso una ristrutturazione dei cromosomi, una "nuova combinazione" di caratteri, ossia di geni o di unità d'informazione, una *ricombinazione*, come dicono i genetisti. In realtà bisognerebbe dire che anche un solo chiasma ha per conseguenza una ricombinazione. Se si pensa che un chiasma difficilmente rimane isolato, che in un cromosoma possono formarsene diversi se non addirittura molti, e che ogni cromosoma (ad eccezione di speciali cromosomi sessuali)

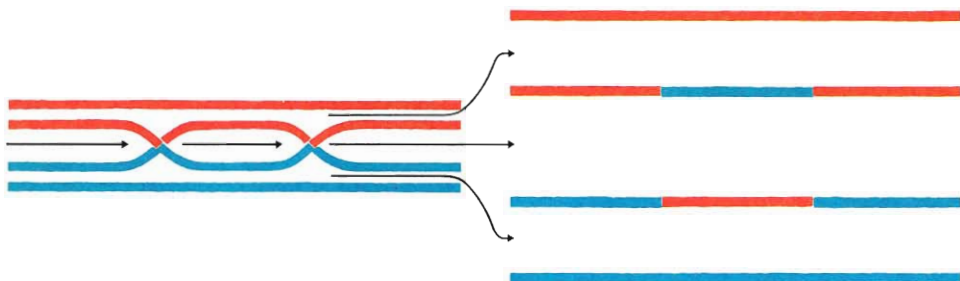
può esserne colpito, appare chiaro che, mediante il sistema sessuale meiotico, è considerevolmente aumentata la variabilità degli organismi, e di pari passo sono aumentate le occasioni di selezione. In tal modo l'evoluzione filogenetica di perfezionamento si può compiere molto più rapidamente che con i soli mezzi della mutazione e della mitosi.

Esaminiamo ora un altro aspetto del problema: un chiasma finisce col produrre una *rottura del concatenamento*. Esperimenti che non è il caso di riferire ci hanno reso noto da oltre trent'anni che i geni sono allineati uno accanto all'altro in gruppi concatenati, all'incirca come le perle di una collana. La probabilità che un chiasma si formi nello spazio compreso tra due geni è evidentemente tanto maggiore quanto più i due geni sul cromosoma sono discosti. Le percen-



Probabilità di scambio tra due geni vicini e due geni lontani.





I frammenti di cromatidio si ricompongono mediante un doppio "crossing-over".

tuali di ricombinazione o di scambio (= frequenza di ricombinazione) sono proporzionali alla *distanza tra i geni*. Quanto più breve è questa distanza, tanto minore sarà la percentuale di scambio. Queste percentuali perciò sono usate per stabilire direttamente le distanze (relative) dei geni. E siccome queste percentuali, entro determinati limiti, sono addizionabili, si possono disegnare vere e proprie *mappe genetiche dei cromosomi*, sulle quali sono indicate le posizioni dei singoli geni con le loro distanze relative.

In questi calcoli bisogna fare naturalmente molta attenzione: se si producono (o producessero, *vedi* qui di seguito) anche solo due chiasmi, uno accanto all'altro, risulterebbe scambiato solo il pezzetto di cromatidio compreso tra i due chiasmi, mentre le sue estremità libere rimarrebbero immutate.

2.07 Come si forma un chiasma?

Due ipotesi possibili: doppia frattura o scelta di copia

Tempo addietro nello studio dell'ereditarietà già si parlava di gruppi concatenati e di fratture del concatenamento, però quest'ultimo fenomeno non era messo in relazione al "crossing-over", alla formazione di chiasmi. Ma che relazione c'è tra chiasma e crossing-over?

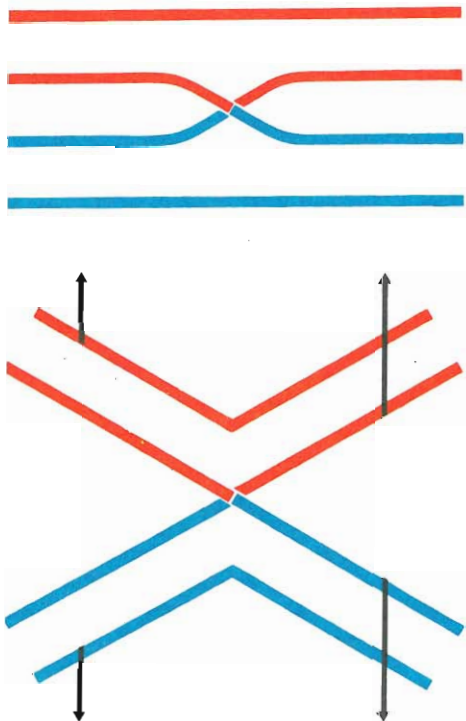
Secondo il loro nome, chiasma (croce) crossing-over (in inglese: incrociamento) significano la medesima cosa. In particolare però chiasma indica una *figura di croce* visibile al microscopio, mentre crossing-over indica lo scambio di frammenti avvenuto a un dato momento "con incrociamento", che si rivela quale ricombinazione di geni, caratteri, solo all'esame della discendenza. È senz'altro possibile (e oggi forse molto probabile) che il crossing-over sia da tempo ultimato, quando il vero e proprio meccanismo della meiosi si mette in moto, avendo quest'ultimo solo il compito di attuare una distribuzione regolare dei cromatidi (segregazione) ed un loro trasferimento nelle cellule figlie. Ma allora un chiasma è la conseguenza (palpabile) di un crossing-over avvenuto in precedenza. Il crossing-over stesso non è visibile al microscopio, perché i 4 cromatidi sono troppo strettamente addossati l'uno all'altro (però se ne possono cogliere chiaramente gli effetti, quelli della "ricombinazione", sulle generazioni successive!). Tuttavia durante l'allontanamento successivo dei cromosomi i due cromatidi omologhi che hanno effettuato il crossing-over rimangono attaccati insieme un po' più a lungo degli altri due, perciò nei punti di scambio avviene uno stiramento che forma le *figure di croci* visibili. Se le cose stanno così, come si produce il crossing-over? Qual è il suo *fondamento molecolare*? A tutt'oggi

on si ha ancora una risposta soddisfacente; due sono le ipotesi in discussione:

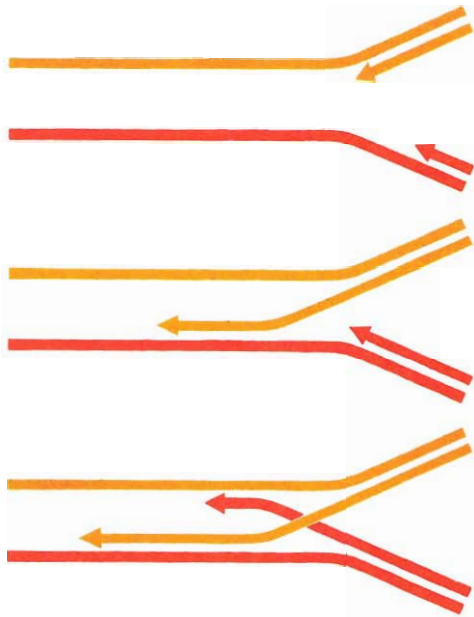
1. Il crossing-over si produrrebbe durante la fase di zigotene, dopo che è avvenuta la replicazione, quando già si è formato lo stadio a quattro filamenti, detto tetrade di cromatidi. A questo punto su due cromatidi omologhi dei quattro presenti, e precisamente in due punti corrispondenti, devono prodursi contemporaneamente due fratture, in un certo senso una doppia frattura, cui segue una saldatura "incrociata". Ora è assai improbabile che succedano nello stesso istante due fratture *in punti omologhi*, o che intervenga un processo enzimatico azione di una "ricombinasi" specifica).

Questa supposizione non è tanto inverosimile, poiché sappiamo, dal moscerino *Drosophila* per esempio, che il crossing-over si osserva soltanto nella femmina durante la formazione delle uova, non nel maschio. Ciò potrebbe dimostrare l'esistenza di un enzima legato al sesso.

2. La difficoltà, o meglio l'improbabilità, cui si è ora accennato, è stata superata per la prima volta con la teoria del "copy-choice", che tradotto alla lettera significa "scelta della copia" = "scelta della matrice". S'intende dire che il crossing-over non si effettua *dopo* la replicazione del DNA nei cromatidi della tetrade ultimata, ma durante il processo di replicazione. Per intenderci



(Sopra) Scambio di frammenti di cromatidio mediante crossing-over. (Sotto) I cromatidi che vanno subito il crossing-over rimangono attaccati più a lungo degli altri due cromatidi.



Copy-choice o scelta di copia: sul filamento singolo giallo il filamento complementare (pure giallo) procede più rapidamente di quello rosso; inoltre "salta" sulla matrice rossa. Il filamento complementare rosso trova il "suo" filamento matrice già occupato, e deve dirottare sul filamento antistante giallo.

miglio, torniamo al meccanismo della chiusura lampo, mediante il quale da un doppio filamento di DNA (e non da un cromatidio) si formano dapprima due filamenti singoli, e solo in seguito (col loro raddoppio) due doppi filamenti. Se immaginiamo ora che il filamento complementare di uno dei due filamenti singoli sia fabbricato un po' più rapidamente dell'altro, e che inoltre "salti" ad un tratto sul filamento singolo che non gli è proprio, cioè scelga l'altra "matrice", il secondo filamento complementare, durante la sua crescita, trova la sua "matrice" occupata, ed è costretto a dirottare sulla "matrice reciproca" rimasta libera⁴.

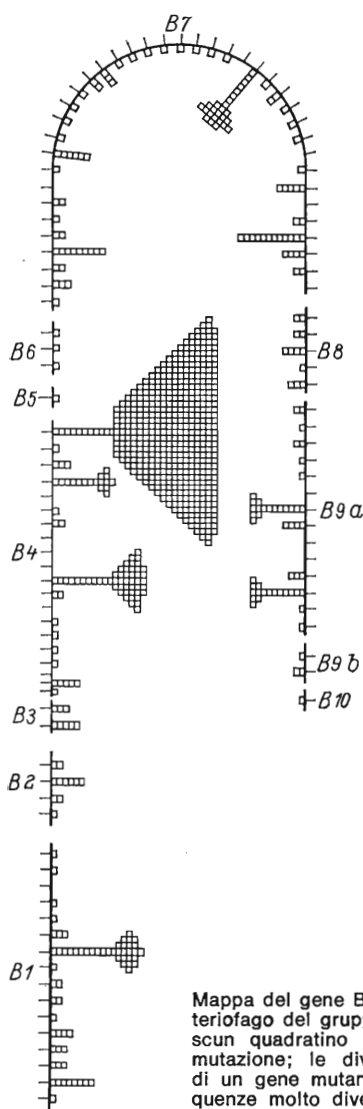
Per quanto convincente possa apparire questo modello (e lo si deve sempre intendere su basi molecolari, cioè nell'ambito della doppia elica di DNA, e non nell'ordine di grandezza dei cromosomi e dei cromatidi), ha pur sempre i suoi difetti. Può infatti spiegare il crossing-over tra due cromatidi, ma non può spiegare che talvolta, come si è accertato, tutti e quattro i cromatidi si ricombinino. In quest'ultimo caso bisogna di nuovo ricorrere alla doppia rottura, come nel modello classico 1. Altre difficoltà per l'ipotesi della scelta di copia sorgono dalla replicazione semiconservativa, ma possiamo rinunciare a tenerne conto. Anche indipendentemente da tutto ciò, dobbiamo prendere atto che una spiegazione esauriente del crossing-over, su basi molecolari, non è ancora stata trovata.

Gli esperimenti di ricombinazione sono "più precisi" del microscopio elettronico?

Se con il crossing-over non abbiamo avuto sulla dimensione molecolare visioni convincenti, avremo più successo se considereremo ancora una volta le percentuali di crossing-over, cioè il tasso di ricombinazione. Tra due geni interi il tasso di ricombi-

nazione è di regola del 50 % o meno. Scrivere 50 % è soltanto un modo diverso per indicare una "segregazione mendeliana" che compia nel rapporto di 1 : 1, e significa che questi due geni sono *liberi di combinarsi*, ciò avviene in ogni caso quando i due geni considerati si trovano su due cromosomi diversi. La probabilità che questi due cromosomi, dopo la meiosi, si trovino insieme è del cinquanta per cento. Se invece i geni sono situati entrambi sullo stesso cromosoma, si ha allora lo 0 % di ricombinazione quando il concatenamento non viene infranto. Tutti i valori compresi tra 0 % e 50 %, sono un indice per la frequenza delle rotture del concatenamento, per la frequenza delle ricombinazioni, per la *distanza relativa fra i due geni*. Ora si sono trovate cifre molto basse, fino a 0,02 %. Se, tenendo conto della lunghezza dei cromosomi, che è misurabile, convertiamo queste percentuali in distanze assolute (non è il caso di illustare questo calcolo piuttosto complesso), troviamo che esse comportano solo pochi Å, talvolta persino solo frazioni di Å. Questo significa soltanto che, con il metodo genetico, possiamo distinguere dei "siti" su cromosoma o sul DNA, che distano tra di loro solo pochi Å. L'analisi delle ricombinazioni ci riconduce direttamente nella dimensione molecolare.

I microscopi elettronici più perfetti hanno nel migliore dei casi un "potere risolutivo" di 3 Å, il che significa che tutto quanto è più piccolo di 3 Å (piccolissime particelle, distanze, ecc.) non può essere distinto da ciò che lo circonda (per ulteriori precisazioni in merito vedi capitolo successivo). Ma possiamo allora concludere che l'analisi genetica delle ricombinazioni ha un potere di risoluzione maggiore del microscopio elettronico? Sì e no. Concettualmente e funzionalmente possiamo distinguere i particolari di un gene che distano fra di loro meno di 3 Å; da questo punto di vista la risposta è allora sì. Ma non è possibile ve-



Mappa del gene B di un batteriofago del gruppo RII. Ciascun quadratino indica una mutazione; le diverse parti di un gene mutano con frequenze molto diverse.

ritorniamo agli esperimenti di ricombinazione.

Tanto per fare un esempio, un gene che contenga almeno 150 codoni, cioè 450 nucleotidi, ha una lunghezza di circa 1500 Å. Perciò anche *all'interno di un gene* sono possibili delle ricombinazioni! È ancora troppo presto per definire che cosa sia un gene, ma possiamo fin d'ora affermare che il gene non è un'unità di ricombinazione, perché anche *nell'ambito del gene stesso* è possibile attuare ricombinazioni. E tanto meno si tratta di un'unità di mutazione, dato che anche solo *parti* di un gene, ad esempio una singola base, possono mutare. Cercheremo di considerare il gene il più a lungo possibile come un'unità funzionale.

A chiusura del paragrafo sulla ricombinazione è opportuno illustrare la *mappa* di un gene. Essa anticipa alquanto altre considerazioni, poiché rappresenta un gene appartenente al genoma di un batteriofago (del gruppo RII), ed i batteriofagi saranno presi in considerazione solo a p. 107). Ma non importa. Vediamo che il gene è diviso in *sotto-unità*, e lo riconosciamo precisamente dal sito di mutazioni spontanee, avvenute indipendentemente le une dalle altre, e che possono ricombinarsi. Ogni mutazione spontanea è indicata con un quadratino; ben pochi sono i punti che non possono mutare. Altri siti invece mutano ripetutamente. Uno di questi colpisce in modo particolare; qui sono comparse centinaia di mutazioni indipendenti, così numerose che per la loro rappresentazione è stato necessario disegnare una figura a imbuto. Evidentemente si tratta di un "hot spot" o "punto caldo", di cui abbiamo già fatto conoscenza a p. 85.

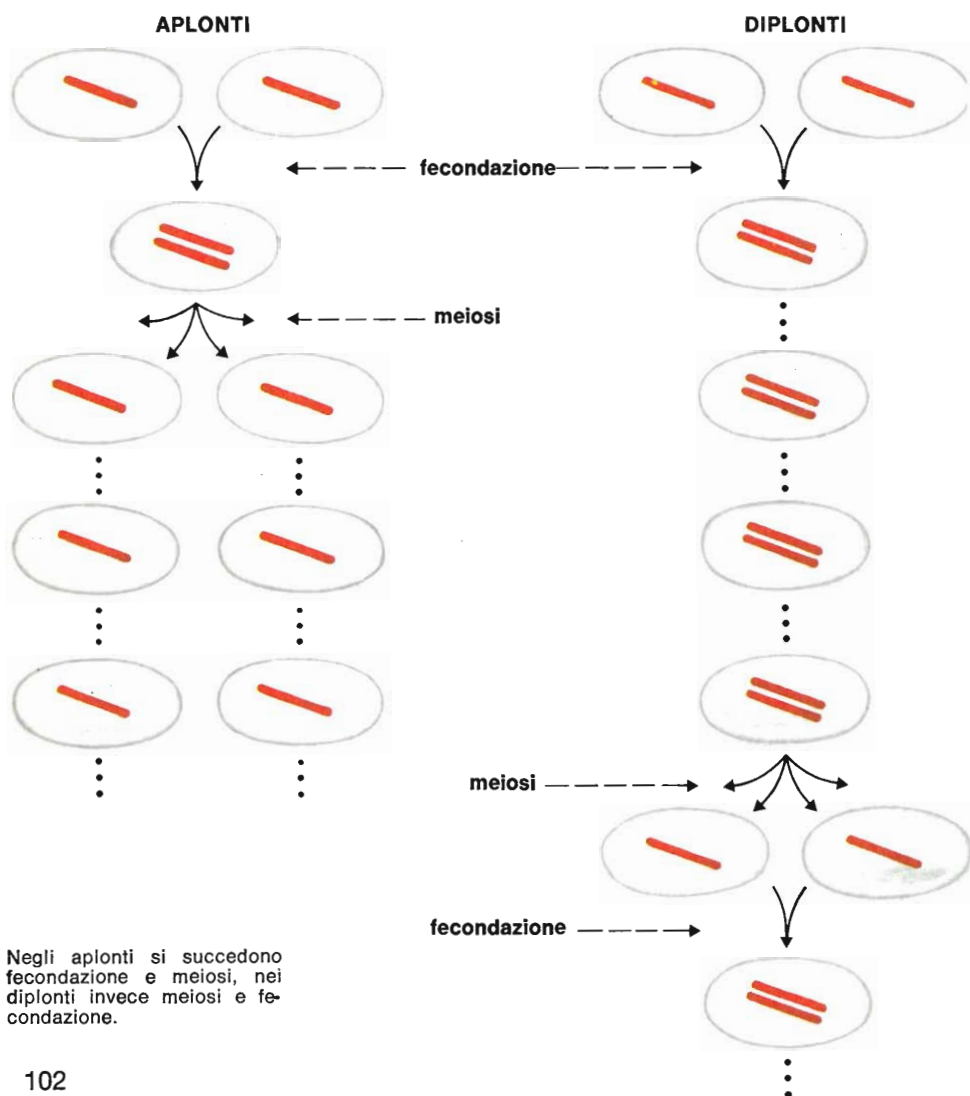
dere questi particolari, poiché ne conosciamo soltanto dei dati numerici: si può ottenere un'immagine solo con il microscopio elettronico. Ma è meglio non confrontare questi due metodi che hanno tecniche e scopi tanto diversi! Dopo questa digressione

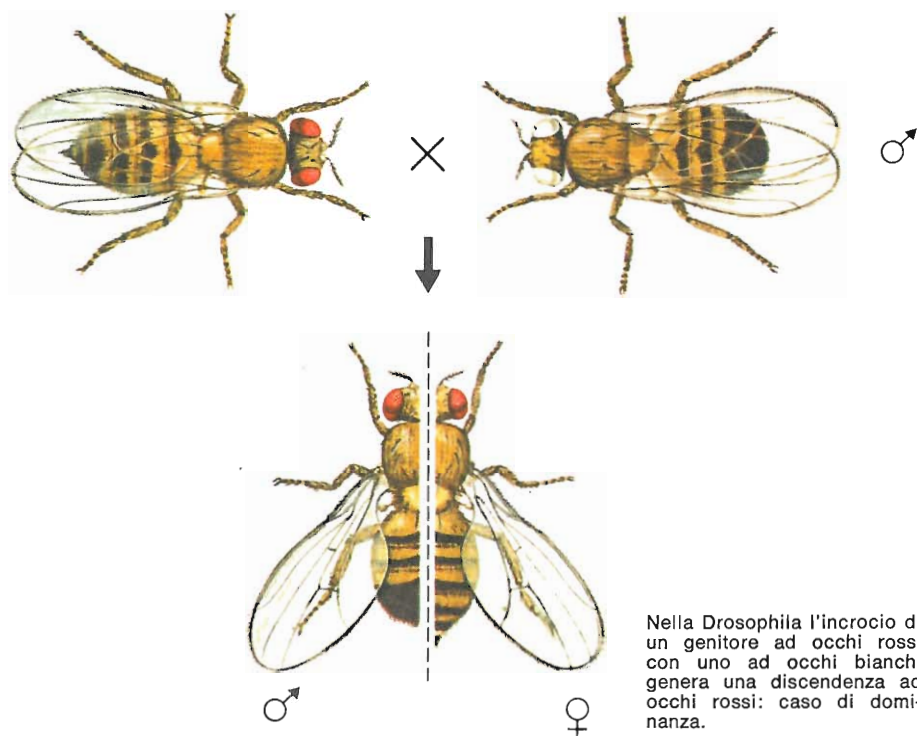
2.08 I diplonti se la cavano meglio

Finora abbiamo trattato del caso relativamente più semplice, quello della meiosi immediatamente susseguente alla fecondazione, ossia quando la prima divisione dello

zigote è riduzionale. Siccome ne derivano 4 gonii aploidi, possiamo denominare a buona ragione gli individui che ne discendono *aplonti*; questi trascorrono quasi tutta la loro vita con *un solo* corredo cromosomico, in condizione aploide. È il caso, per esempio, di molte alghe e di molti funghi. Ma non si tratta assolutamente della norma. Molti vegetali, quasi tutti gli animali e naturalmente anche l'uomo sono infatti *di-*

plonti: la loro ovocellula fecondata si divide *mitoticamente*, producendo quindi solamente cellule diploidi, con doppio corredo cromosomico. Solo al momento della formazione delle cellule germinali è "chiamata in causa" la meiosi; le uniche cellule che diventano aploidi sono i gameti, o si vuole le cellule uovo (non fecondate) e gli spermatozoi: il prodotto della loro fusione è già nuovamente diploide. Qui av-





Nella *Drosophila* l'incrocio di un genitore ad occhi rossi con uno ad occhi bianchi genera una discendenza ad occhi rossi: caso di dominanza.

viene proprio il contrario, la fecondazione segue la meiosi.

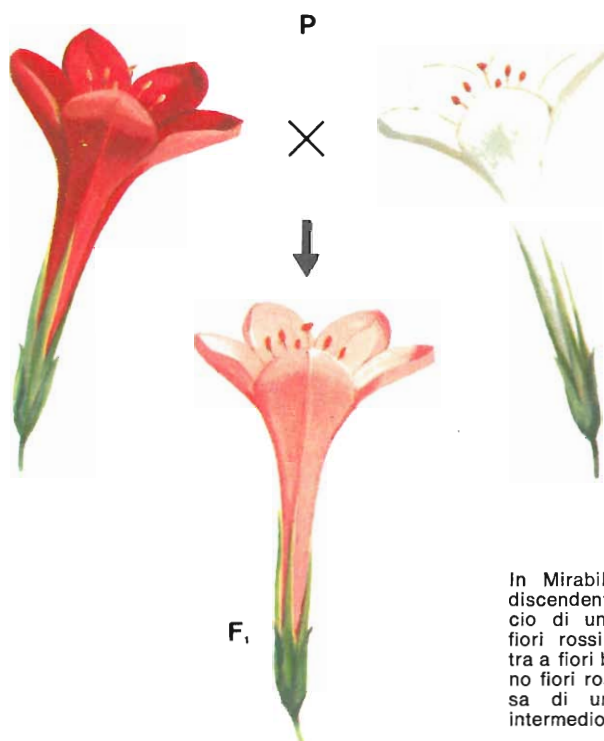
Non a caso sono diplonti i gruppi di organismi superiori e più evoluti. La diploidia offre effettivamente notevoli vantaggi. Ne è tuttavia un presupposto l'esistenza dell'*eterozigosi*, in cui i due genomi che si uniscono nello zigote non sono perfettamente identici. In ogni cellula diploide ogni cromosoma è rappresentato due volte; di conseguenza col cromosoma omologo ogni gene è raddoppiato. I geni che costituiscono questa coppia sono detti *alleli*: avremo un allele di origine materna e l'altro di origine paterna. Entrambi gli alleli partecipano, ma in misura diversa, alla formazione dei caratteri definitivi dell'organismo.

Ammettiamo che nel moscerino *Drosophila* un allele determini occhi bianchi e l'altro occhi rossi, e che il moscerino adulto ab-

bia però occhi rossi: diciamo che l'allele "occhi rossi" si è imposto completamente sull'allele "occhi bianchi", che è *dominante*, in contrapposito a quello sottomesso che è allora *recessivo* e praticamente inattivo.

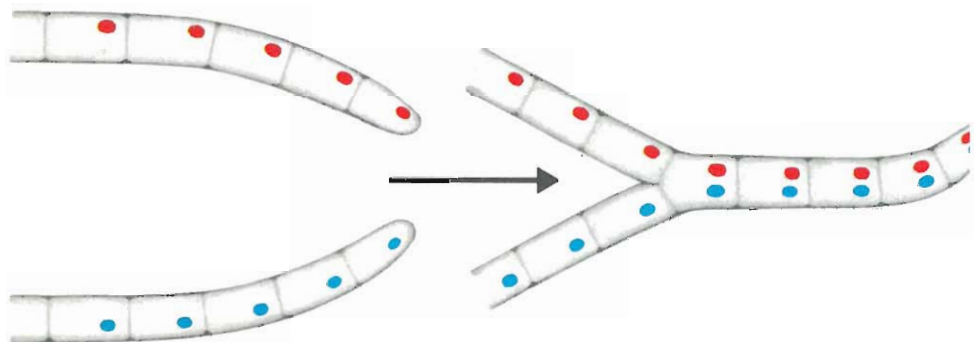
Nella pianticella *Mirabilis jalapa* invece esiste un allele per il colore rosso dei fiori ed uno per il colore bianco. Se questi alleli vengono associati con un incrocio, la pianta dà fiori rosa: il carattere rimane *intermedio* tra rosso e bianco.

Dominante e recessivo sono casi estremi, tra i quali esistono innumerevoli gradazioni. Ma soprattutto il *grado* di dominanza di un allele non è assolutamente costante; può cambiare fino alla completa scomparsa della dominanza (al suo posto può subentrare un comportamento intermedio, oppure l'allele finora dominante può diventare addirittura recessivo). Su tutto questo influiscono



fattori interni supplementari e fattori ambientali. Perciò si può dire che un organismo diploide in un certo senso ha a sua disposizione informazioni di riserva le quali, in determinate condizioni, possono essere

utilizzate con vantaggio. Inoltre un diplonte può, entro certi limiti, *accumulare* alleli recessivi che negli aploidi avrebbero immediatamente provocato la morte; questi alleli recessivi immagazzinati possono anche, in



Un eterocarion si forma quando le cellule poste all'estremità di due filamenti cellulari aploidi si fondono ad esclusione dei loro nuclei. Le nuove cellule contengono due nuclei diversi affiancati.

occasione di ricombinazioni, dare origine a nuovi tipi avvantaggiati, come abbiamo visto nel caso della streptomycin-resistenza.

Il possesso di un doppio genoma è apparso talmente desiderabile, che certi aplointi ne hanno cercato un sostituto. Questo è in particolare il caso di alcuni funghi. Nella già citata *Neurospora crassa*, due singoli filamenti di cellule (detti "ife" nei funghi) possono fondersi e crescere insieme. Le loro cellule possiedono allora due nuclei aploidi affiancati di origine diversa formanti un eterocarion (dal greco *èteros* = diverso e *kàrion* = nucleo). Tuttavia i due nuclei non si fondono insieme, e non sono possibili fenomeni di ricombinazione. In altre muffe, invece, come in *Aspergillus* e *Penicillium* (il genere comprendente alcune specie che producono la penicillina), anche se molto di rado — nel rapporto di una volta su 1 milione — si può produrre una vera e propria fusione dei nuclei.

Successivamente è anche possibile un ritorno allo stato aploide — circa 1 volta su 1.000 — (in questo caso con ricombinazioni), ma non attraverso un processo di meiosi, bensì con un dimezzamento quasi casuale del numero dei cromosomi.

Proprio perché, nel caso degli eterocarionti, i fenomeni di ricombinazione passano in sottordine, si può concludere che il possesso di due "serie d'informazioni" offre dei vantaggi, altrimenti tale innovazione, se fosse superflua, sarebbe stata eliminata da molto tempo.

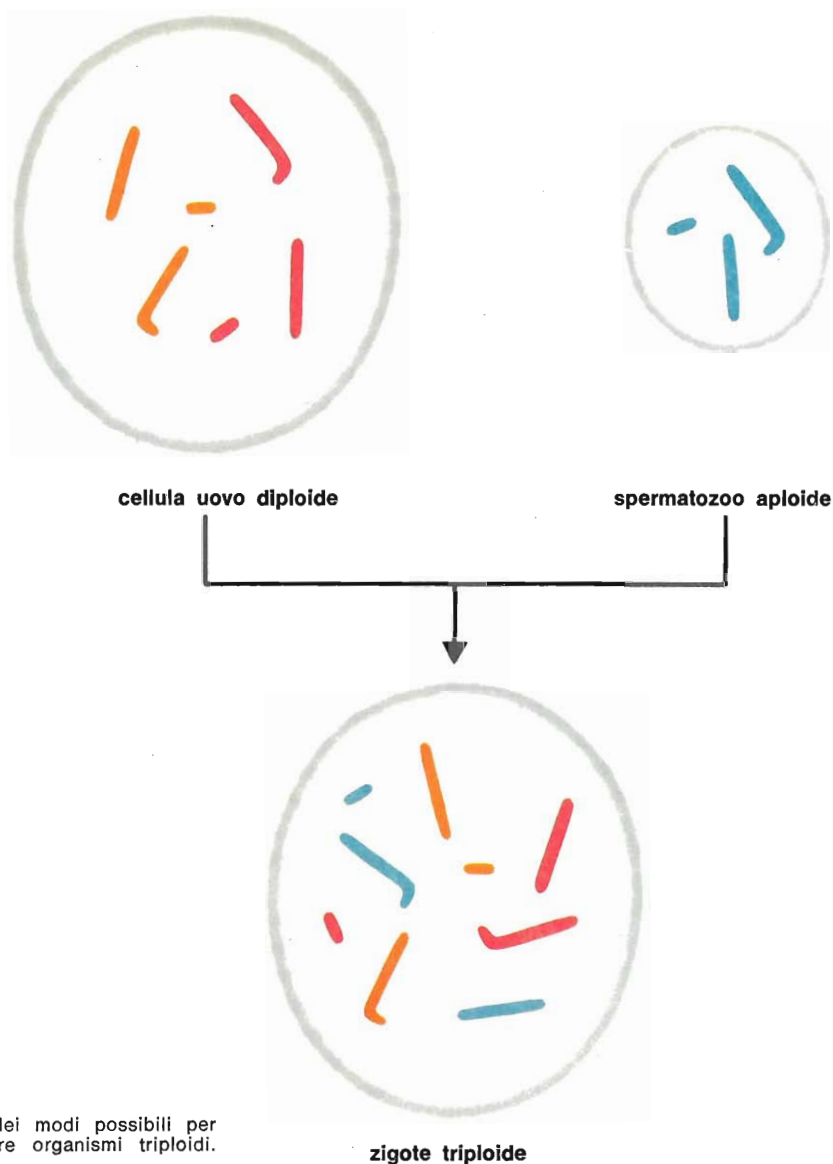
Corredi cromosomici ancora più numerosi?

Se è più vantaggioso possedere due serie di cromosomi invece di una sola, si potrebbe pensare che quanti più ve ne sono, tanto meglio è. Entro certi limiti ciò può anche essere giusto. Esistono effettivamente organismi, per lo più vegetali, che sono triploidi, tetraploidi o più ancora, che possiedono cioè 3, 4 o più serie di cromosomi,

e che effettivamente risultano favoriti. Tuttavia questa non è la regola, anzi la diploidia rappresenta un caso talmente "normale", che la comparsa di un numero superiore di genomi (cromosomi) è considerata una *mutazione del genoma* (dopo le mutazioni dei geni e quelle dei cromosomi, ecco il terzo tipo di mutazione).

Se per esempio nella formazione dell'uovo dovesse non attuarsi la meiosi, il che ogni tanto può capitare, le cellule uovo rimarrebbero diploidi. La loro fecondazione con uno spermatozoo aploide, oppure per mezzo di un granulo di polline, ha come conseguenza la formazione di uno zigote *triploide*, e, se non avvengono perturbazioni nello sviluppo, quella di un organismo triploide. Sovente, ma non sempre, in questi casi le cellule sono più grandi e l'intera pianta più forte e "lussureggiante". È interessante segnalare che un numero considerevole delle nostre piante utili è triploide, ad esempio la bietola da zucchero e la vera menta. Evidentemente tutto ciò comporta anche inconvenienti. Durante la meiosi i cromosomi in soprannumero, quelli del terzo assetto (e non è detto che si tratti di tutto il terzo genoma al completo), non trovano il compagno per appaiarsi e la maggior parte va quindi perduta. Ne consegue che queste piante sono sterili. Per ottenere la semente della bietola da zucchero bisogna incrociare tra di loro le forme di- e tetraploidi, mentre la vera menta può moltiplicarsi solo per talea (ereditarietà mitotica!).

Gli organismi tetraploidi, cioè con quattro serie di cromosomi, sono almeno altrettanto frequenti, anche perché possono originarsi in modi diversi: con fecondazione di una cellula uovo diploide da parte di un granulo pollinico ugualmente diploide, oppure con alterazioni del processo mitotico, come quando i cromosomi si raddoppiano, ma non vengono separati in due nuclei e rimangono a costituirne uno solo. Questo secondo caso può essere seguito sperimentalmente con l'uso dei *veleni mitotici*. Il veleno mitotico



Uno dei modi possibili per ottenere organismi triploidi.

più conosciuto ed efficace è la colchicina, un alcaloide velenosissimo del Colchico autunnale, la comune freddolina. (Medea, la più famosa mescitrice di veleni dell'antichità greca, era della terra di Colchis: di

qui il nome della pianta in questione.) Generalmente nei tetraploidi la meiosi non è disturbata; possono quindi formare gameti diploidi fertili. A dire il vero però la fertilità sovente si riduce; questa riduzione

si accentua sempre più nei gradi di poliploidia superiori. In questi ultimi casi compaiono effettivamente disturbi nella mitosi, in modo che l'aumento delle serie di cromosomi ha limiti posti dalla natura. Tuttavia il contenuto di "informazioni di riserva" aumenta con la poliploidia. Questi vegetali possiedono quindi migliori facoltà di adattamento; si può capire come regioni dal clima estremamente inospitale siano popolate di piante poliploidi, che allo Spitzberg rappresentano il 90 % della vegetazione, mentre solo il 10 % è di diploidi e di aploidi. Inoltre nei poliploidi non tutti i caratteri vengono "rafforzati" nello stesso modo, come dovrebbe avvenire se esistesse una proporzione diretta con l'aumento della sostanza ereditaria. In realtà alcune misure variano aumentando — ad esempio le dimensioni della cellula e del nucleo — altre diminuendo — come la quantità delle sostanze assunte. Ed anche questi dati non sono costanti. Dobbiamo concludere che i vari geni non agiscono indipendenti, ciascuno per proprio conto, ma che tra essi esistono rapporti di azione reciproca di vario genere. A p. 206 e 217 faremo conoscenza con alcune di queste "interrelazioni".

2.09 Ricombinazioni anche nei batteri

I sistemi parameiotici

Sentiamo ripetere sovente che i batteri hanno una particolare facilità di "adattamento" a nuove condizioni ambientali e di produzione di forme resistenti agli antibiotici come la streptomycina ed altri. Come abbiamo detto, questi risultati sono possibili soltanto se si interrompe con mutazioni e selezione la fissità mantenuta con la "replicazione" pura e semplice di una doppia elica di DNA. Sappiamo anche che la ricombinazione di substrati ereditari mutanti è accelerata con i processi sessuali, che negli organismi viventi superiori si identificano con la fecondazione e con la meiosi. Ci chiediamo ora

se esista qualcosa di simile anche nei batteri, che sono privi di nucleo. Se così fosse, i batteri, con la loro elevata capacità di moltiplicarsi, dovrebbero rappresentare un materiale particolarmente idoneo per dimostrarlo. Infatti si è presto riscontrato che i batteri, o almeno alcuni di essi, hanno sviluppato sistemi che permettono di ottenere, in stretta analogia, effetti di ricombinazione molto efficaci. Tuttavia questi procedimenti di ricombinazione avvengono *senza* meiosi; perciò qui si parla di processi o sistemi "*parameiotici*", o semplicemente "*parasessuali*". Ne esistono almeno di tre tipi diversi, che è consigliabile prendere in considerazione, anche per ragioni mediche. A tale fine potremmo senz'altro utilizzare diversi concetti che ci provengono dall'ereditarietà meiotica. Compaiono però fatti nuovi. Per comprenderli incominciamo con il considerare i virus e la loro genetica. Ma che cosa sono in realtà i virus, e come mai anch'essi manifestano una trasmissione ereditaria?

2.10 Batteriofagi

"A virus is a virus"

"Un virus è un virus": è l'espressione di André Lwoff (1959) premio Nobel di medicina 1965, per dire soltanto che una definizione precisa è prematura, ma che un virus rappresenta qualcosa d'inconfondibile, la cui definizione è quasi superflua. Ciò nonostante riteniamo che il lettore desideri una spiegazione esauriente sulla natura dei virus. Ciascuno ha provato a proprie spese che i virus esistono. Tutti sanno che malattie pericolose sono causate da virus: poliomielite, meningite, vaiolo, morbillo; anche certe forme di influenza sono affezioni "virali". Negli animali possiamo citare l'afta epizootica e la peste del pollame; anche i vegetali sono colpiti, ad esempio dal virus del mosaico del tabacco, dal virus delle patate e da altri ancora. Ed infine, per nostra

consolazione, esistono anche virus che agrediscono ed annientano i batteri: sono i batteriofagi, cioè i divoratori di batteri.

Con queste poche parole abbiamo già precisato una delle proprietà dei virus, la loro "infettività", cioè la capacità di colpire, di "infettare" cellule viventi. La seconda delle loro proprietà è veramente sbalorditiva: non possiedono un ricambio proprio. Fuori dalle cellule colpite sono inanimati, sovente addirittura in forma cristallina. Però sono in grado di trasmettere caratteri ereditari. Ma a questo punto sembra che ci sia una contraddizione con quanto abbiamo sostenuto all'inizio del capitolo. Avevamo detto: senza ricambio non esiste ereditarietà, e senza ereditarietà non esiste ricambio! Invero questa affermazione rimane valida. Se i virus hanno discendenti, se trasmettono loro le proprie predisposizioni ereditarie senza manifestare un proprio ricambio, vuol dire allora che dovranno prenderne uno "a prestito". Perciò i virus sono stati confrontati a pirati: assalgono un mercantile (cellula ospitante) e sottomettono tutto l'equipaggio (sistema del ricambio) facendolo lavorare per sé. Volendo esprimerci un po' più seriamente, diremo che i virus si comportano come masserelle vagabonde di geni, che nella cellula infettata tramutano il suo ricambio a favore della produzione di altri virus, mentre al di fuori della cellula sono sostanze insignificanti ed inattive.

Ma i virus sono allora proprio esseri viventi? Ricadiamo in una questione di definizioni. Se assumiamo come criterio della vita il ricambio, i virus sono inanimati, ma se assumiamo unicamente l'ereditarietà, i virus sono organismi viventi. Ma chi oserebbe assumere come unico criterio della vita l'ereditarietà, ossia la produzione di discendenti, con l'aiuto di un ricambio a prestito? Ma procediamo. Una terza caratteristica dei virus, altrettanto sorprendente, è quella di contenere — secondo i casi — solo un tipo di acido nucleinico, o DNA, o RNA; si è persino scoperto un batteriofago che pos-

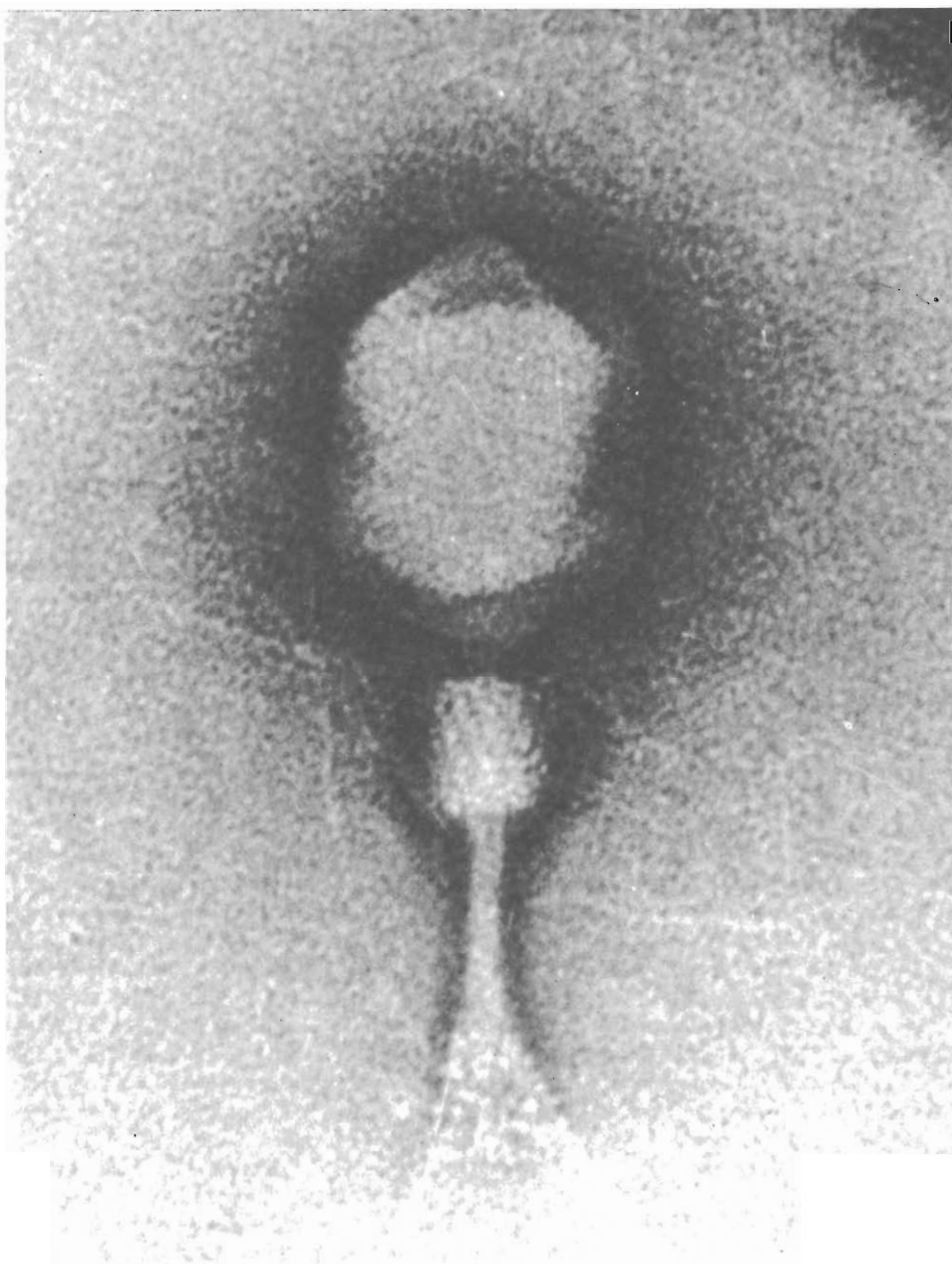
siede il DNA a filamento unico. È stato catalogato $\phi \chi 174$ (fi chi 174) e rappresenta un essere miracoloso come potrebbe esserlo l'unicorno tra i ruminanti!

Con l'aiuto di queste tre particolarità — mancanza di un ricambio proprio, ereditarietà, un solo tipo di acido nucleinico — possiamo distinguere inequivocabilmente i virus dalle cellule o dai costituenti cellulari ma con tutto ciò non sappiamo ancora che cosa sia un virus. Nelle pagine che seguiranno ci limiteremo a considerare i virus divoratori di batteri, cioè i batteriofagi, chiamati in modo abbreviato i *fagi*, i quali offrono occasioni a sufficienza per mostrarci le caratteristiche dei virus e la loro genetica. Un fago è talmente piccolo che al microscopio comune non si può vederlo (alcuni potrebbero essere contenuti in numero di 10^4 particelle in un millimetro cubo: 100.000 miliardi di esemplari!). Per identificarli si deve ricorrere al microscopio elettronico, oppure bisogna osservarne l'azione sui batteri.

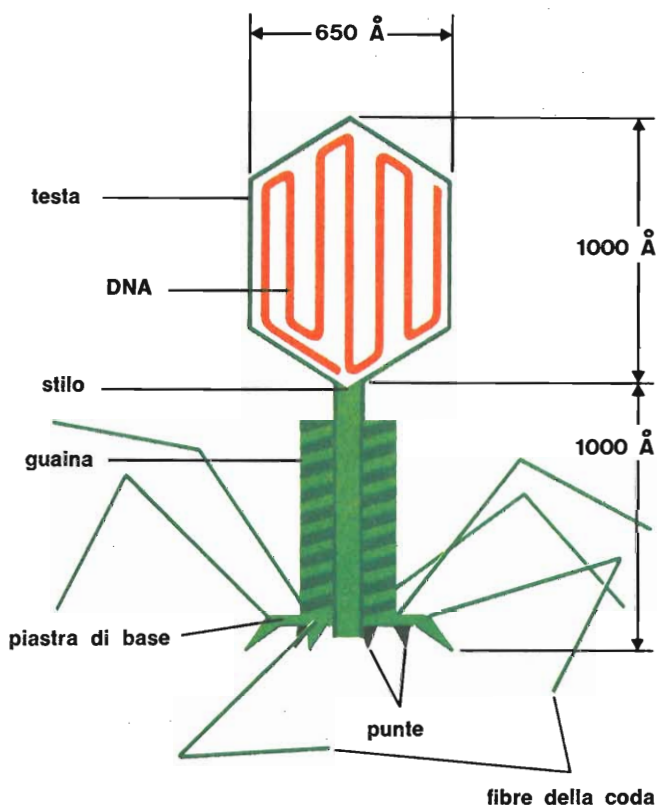
Qual è l'aspetto di un fago?

Esistono centinaia, per non dire migliaia, di fagi diversi. Per evitare una dispersione delle ricerche, già di per sé molto complesse, gli Stati Uniti hanno presto avanzata la proposta (che è stata accettata) di concentrare gli sforzi su di un numero limitato di fagi, e di studiarli molto a fondo. Si tratta quasi esclusivamente di fagi che possono moltiplicarsi solo sul ceppo B di *Escherichia coli*. (Si vede già che un fago non attacca *qualsiasi* specie di batterio, ma è altamente specifico per determinate cellule ospiti.) I meglio conosciuti sono sette, indicati con una sigla da T_1 a T_7 . Scegliamo il T_2 .

Dato che al microscopio elettronico non sempre tutti i particolari sono ben visibili, atteniamoci per la descrizione al disegno riportato alla p. 110. Il fago T_2 è composto di una testa e di una coda, ed inoltre — all'estremità della coda — di una piastra



Fotografia al microscopio elettronico del batteriofago T₂.



Ricostruzione schematica del fago T₂.

di base armata di 6 punte e di 6 fibre, dette fibre della coda. La testa, delimitata da un rivestimento protettivo proteico, contiene il DNA.

T₄ e T₆, i numeri pari, hanno lo stesso aspetto di T₂. In T₁ e T₃ la coda è più lunga e sottile, in T₃ e T₇ è invece molto corta e quasi non si vede. Diverso evidentemente è il fago $\phi \chi 174$ ("l'unicorno") già citato: è un poligono di almeno 12 sottounità e completamente senza coda.

2.11 Il ciclo vitale di un fago

Una storia di pirati

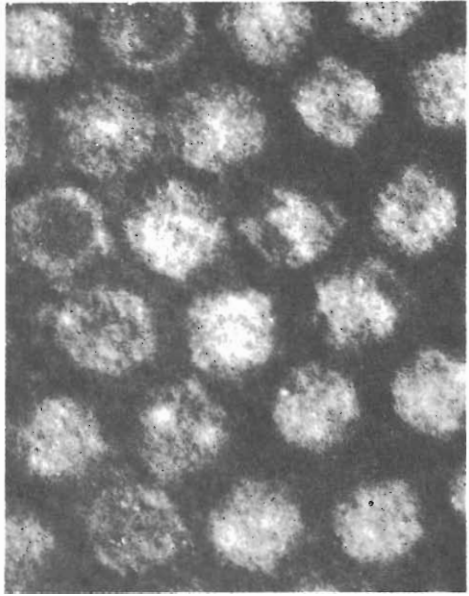
In succinto la storia è questa: quando un fago incontra un batterio che può infettare,

vi si attacca esternamente con l'estremità della coda, penetra attraverso la parete batterica all'interno della cellula, e per un certo tempo non è più rintracciabile. Solo dopo 10 minuti compaiono nella cellula le prime particelle infettive del virus, che dopo 20 minuti sono diventate cento o duecento. A questo punto il batterio si squarcia, va incontro a "lisi" (dal greco *luein* = sciogliere), e le centinaia di virus figli liberati attendono nuove prede.

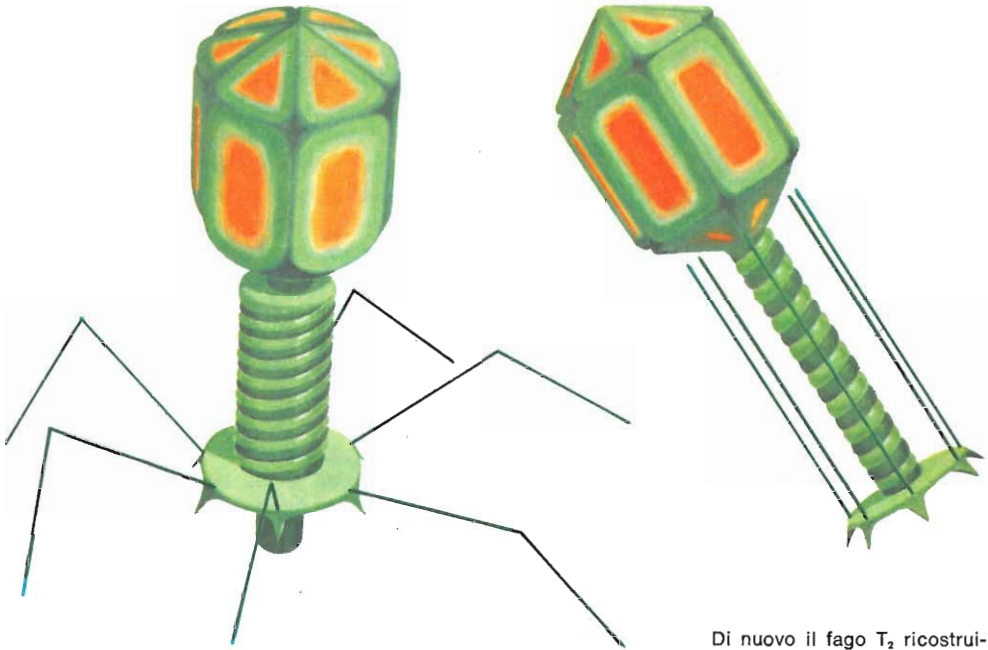
Quanto è stato descritto in queste poche righe rappresenta nella realtà un vero romanzo, un vero racconto di pirati, la trama raffinata di una "storia della vita nascosta", come è stata chiamata dal biologo molecolare Wolfhard Weidel, nella quale alla fine rimangono le spoglie di un batterio e

duecento discendenti inanimati di un fago. L'incontro tra fago e batterio è lasciato al caso. Ma poiché il fago è specifico per un ceppo di ospiti ben definito, deve dapprima provare se il batterio è, o non è, infettabile. Secondo ogni apparenza gli "occhi" del fago sono le fibre della sua coda, che riconoscono dalla *parete* cellulare se si tratta di un batterio adatto. (Quanto avviene in tale occasione è da ascrivere a reazioni immun-chimiche, come vedremo al cap. 6°.) In seguito un enzima contenuto nella coda del virus inizia la perforazione della parete batterica mediante il dissolvimento locale dei suoi costituenti.

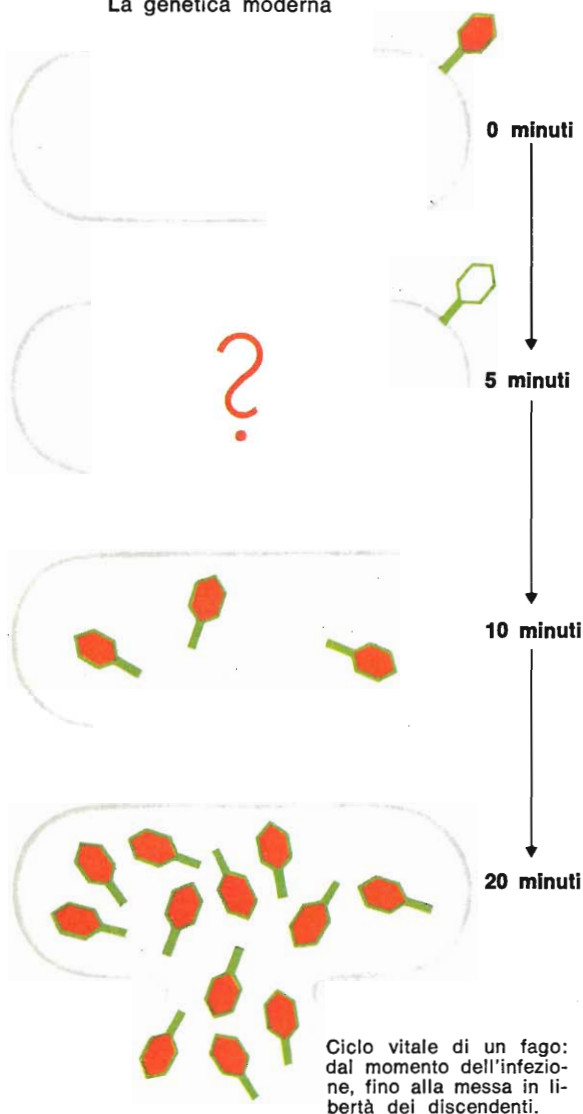
Ora la via è libera per il DNA. Il rivestimento protettivo — o *capsula* esterna — della testa si contrae, e spreme, come se si trattasse di un'iniezione, il DNA della testa, e *solo* questo, all'interno della cellula ospitante. Capsula proteica, coda, punte, fibre della coda rimangono all'esterno. Se a questo punto si apre la cellula batterica in-



Fagi di tipo $\phi\chi$ 174. Fotografia al microscopio elettronico.



Di nuovo il fago T_2 ricostruito in modello plastico.



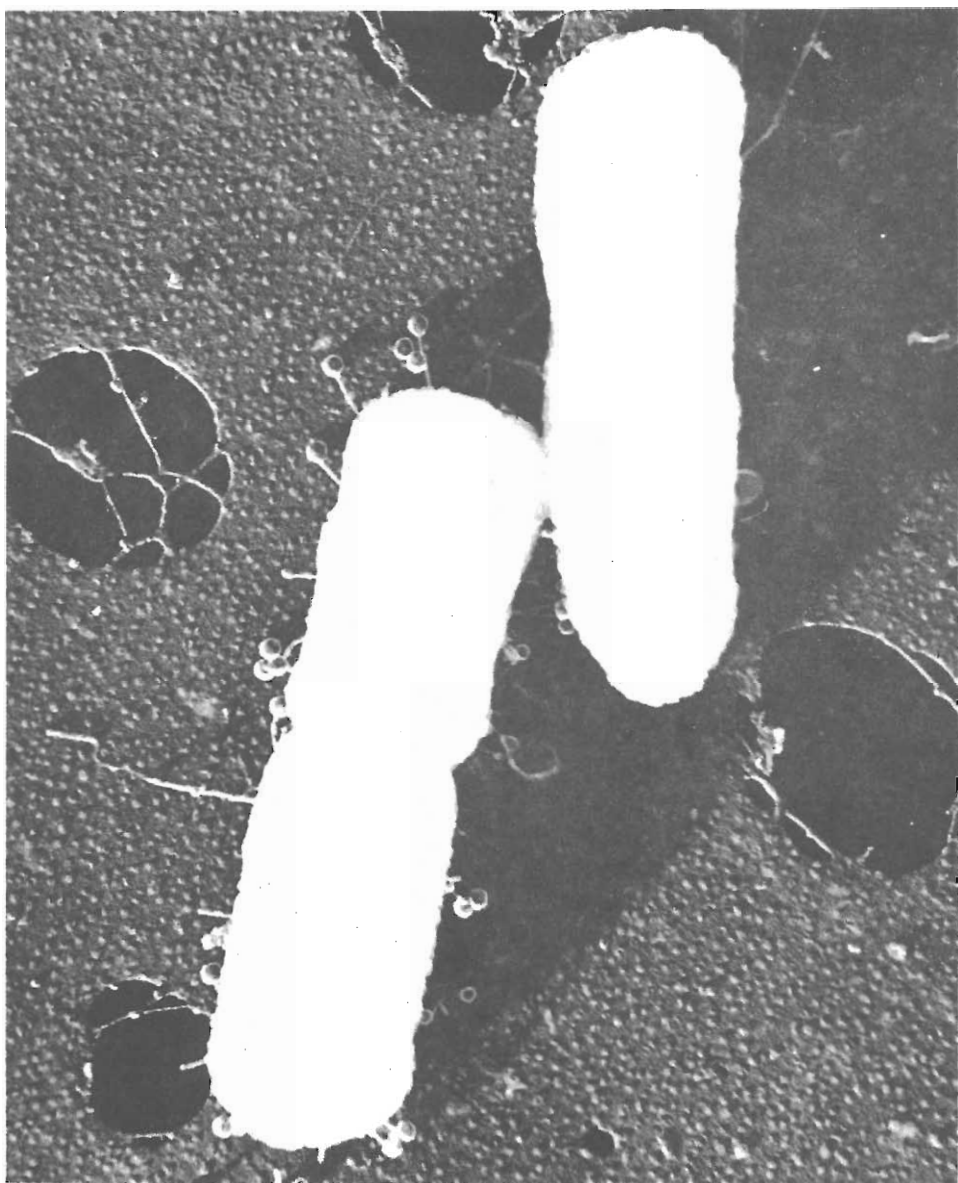
batterio e che contiene alcuni particolari componenti. Solo in seguito la cellula sottomessa inizia la produzione di proteine fagiche e di DNA fagico, indipendentemente l'uno dalle altre. Raggiunta una quantità sufficiente di entrambi, all'interno della cellula ospitante si compongono nuovi fagi completi. Questo processo può dirsi senza alcun timore *morfogenesi*, cioè creazione di una forma (gli specialisti parlano di *morfopoiesi*) e può essere messo in rapporto alla morfogenesi degli organismi pluricellulari. In entrambi i casi è ancora un processo oscuro; ma proprio nei fagi si delinea la possibilità d'interpretare lo sviluppo della forma con eventi a livello molecolare.

Un momento particolarmente affascinante del "montaggio" dei fagi, riguarda il DNA concentrato nella testa del fago infettivo ed avvolto da una capsula proteica. Può essere estratto da questa capsula mediante uno "choc osmotico" (gentile circonlocuzione per indicare il procedimento alquanto brusco di immersione del fago, tolto dalla soluzione salina di coltura, in acqua distillata, in modo da farne scoppiare la capsula). Il DNA così ottenuto, ancora più o meno ripiegato su se stesso, è posto su di una piccola goccia di proteina liquida, la quale a sua volta viene trasportata su di un'ampia superficie d'acqua. La proteina ha tendenza a spandersi su questa superficie, contemporaneamente allargando e distendendo il DNA fagico che trascina con sé. Con manualità molto delicate si riesce ad applicare questo DNA disteso su di una sottile membrana, per poterlo poi fotografare con il microscopio elettronico.

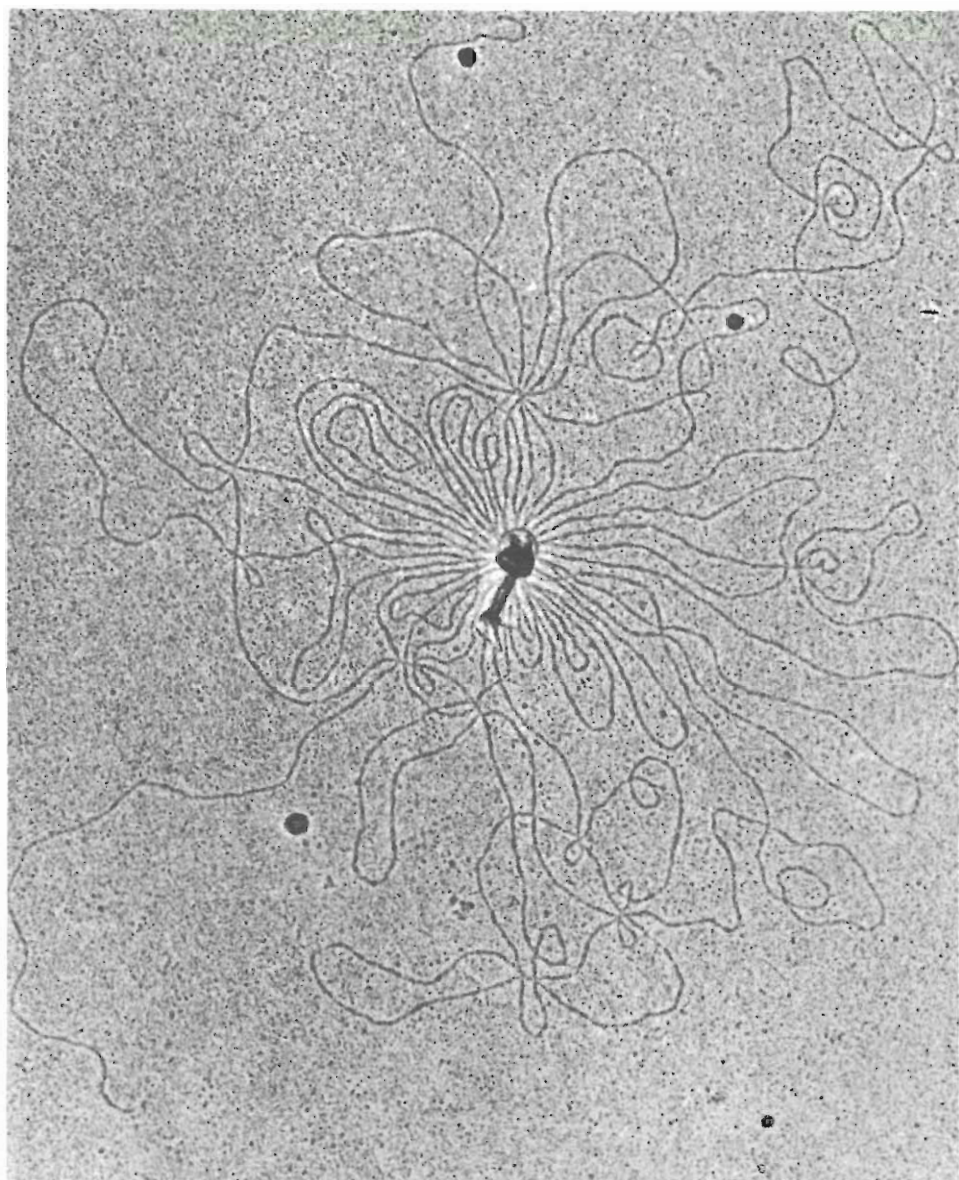
Si riscontra qui molto chiaramente che le anse formate appartengono ad un solo doppio filamento di DNA, con due estremità, una iniziale e l'altra terminale. La sua lunghezza totale, misurata e calcolata, raggiunge i $34 \mu = 34.000 \text{ m}\mu$. Il diametro massimo della testa del fago è però all'incirca di $100 \text{ m}\mu$. Di conseguenza la doppia elica deve essere ripiegata su se stessa almeno

fettata, non vi si trovano fagi infettivi: il fago, o meglio il suo DNA, è passato allo stadio *vegetativo*.

Ma questo DNA non rimane inattivo. Per prima cosa produce, anzi fa produrre dalla cellula, delle proteine, e precisamente degli enzimi. Questi ultimi serviranno alla sintesi di DNA fagico, che è sconosciuto al



Cellula batterica coperta da numerosi fagi. (Tra l'altro questa sta coniugandosi con una seconda cellula priva di fagi.)



Genoma disteso di un fago con estremità iniziale (in alto) e terminale (in basso a sinistra); in origine era contenuto tutto nella testa del fago.

200 volte. Tutte queste pieghe devono prodursi nella cellula ospitante durante la fabbricazione dei giovani fagi, cioè in 20 minuti, dato che in 20 minuti, come si è visto, si è compiuto tutto il ciclo vitale. (Questa operazione corrisponderebbe a quella di introdurre ordinatamente ed in brevissimo tempo uno spago sottile lungo 7 metri dentro un ditale.) Succede come nella contrazione dei cromosomi durante la meiosi e la mitosi? Non lo sappiamo ancora.

E così, con la produzione di una discendenza (ereditariamente identica), il racconto si conclude rapidamente. Quasi tutto il materiale a disposizione della cellula ospitante è stato consumato per la fabbricazione della sostanza propria del fago; quanto ancora avanza rimane a disposizione di enzimi litici che lo decompongono, enzimi del tutto simili a quelli che durante il processo infettivo sciolgono la parete cellulare. *Del batterio non esiste praticamente più nulla.* Il viaggio è alla fine; i pirati (centuplicati in quanto fagi) si sono messi al sicuro, la nave è affondata.

Anche i fagi mutano

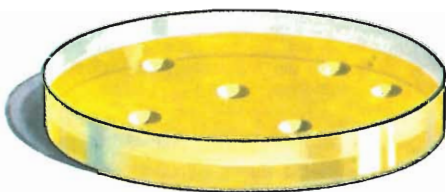
I fagi si moltiplicano più rapidamente dei batteri. Può essere dimostrato con relativa facilità, aggiungendo ad una sospensione di batteri una quantità possibilmente forte di fagi. La sospensione, che è inizialmente opaca per la presenza di batteri, diventa ben presto completamente limpida, perché i batteri hanno subito la lisi. Evidentemente si ottengono dati più numerosi operando in modo contrario, cioè con pochi fagi e molti batteri, ma non mescolandoli questa volta in sospensione in una provetta, bensì distribuendo i fagi su di un terreno solido di coltura, ad esempio uno strato di agar. Questo, ad esempio di due o tre giorni, si copre di un tappeto regolare di batteri. Solo nei punti in cui si trovava un fago avviene a turno dapprima l'infezione, poi la lisi delle cellule infettate, ed infine la libera-

zione di cento o duecento nuovi fagi, con l'infezione di altre cento o duecento cellule batteriche, e così via. In questi punti, nello strato di batteri, si scava un foro (in inglese *plaque* = placca), dovuto alla presenza iniziale di una singola particella fagica. Le dimensioni e la forma del contorno di queste placche sono per di più caratteristiche di ogni "ceppo di fagi".

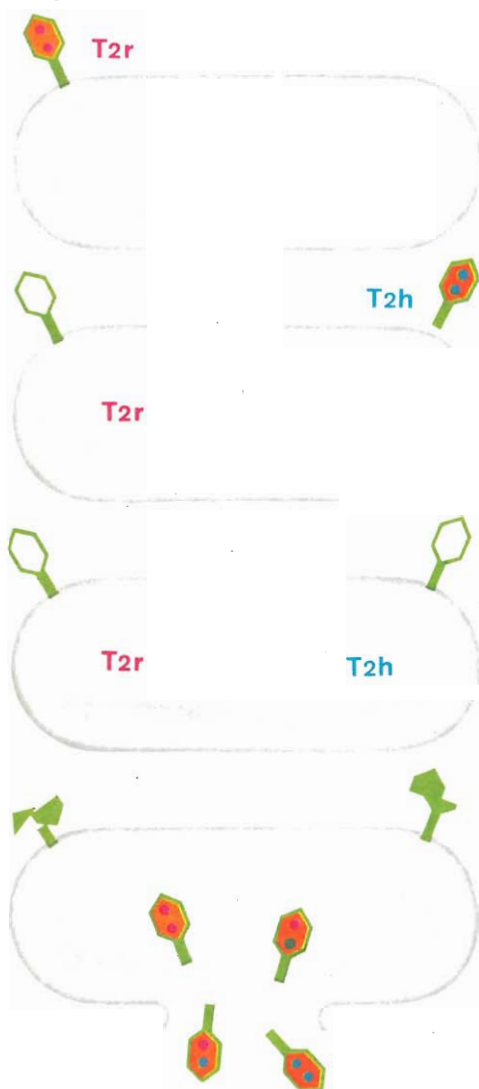
Ogni tanto compaiono placche con margini sfrangiati, o altre di dimensioni particolarmente grandi. In queste zone hanno agito *mutanti* del ceppo originario; nell'ultimo caso citato si tratta di *mutanti r* (*r* da *rapid*, cioè rapido nella riproduzione). Siamo così rientrati nella genetica. D'altronde conosciamo già i *mutanti r*; ve ne sono di tre tipi, *rI*, *rII*, *rIII*. La "mappa di un gene" a p. 101 deriva dal fago T_2 , *rII*.

Proviamo ora a cospargere molti fagi e molti batteri insieme su di una piastra di agar. Tutta la sua superficie resta limpida (i batteri hanno subito la lisi) ad eccezione di pochi punti. Qui si sono sviluppati batteri *resistenti*, cioè cellule diventate fago-resistenti per mutazione. Il ceppo *Escherichia coli B* si è mutato in *B/2* (che significa resistente contro T_2).

Ed ora proviamo il contrario. Se mescoliamo questi batteri T_2 -resistenti con moltissimi fagi normali T_2 , in tale quantità che possibilmente si trovi tra di essi un fago *mutante*, qui e là ricompaiono effettivamente le placche, le quali naturalmente provengono da fagi T_2 , ma diventati tali da procurare la



Nel denso strato di batteri, nei punti in cui sono presenti fagi litici, si formano fori (le "placche").



La doppia infezione di un batterio con i due fagi mutanti T_{2r} e T_{2h} conduce ad una discendenza di fagi in cui i due caratteri, ricombinati, compaiono assieme.

lisi delle forme resistenti B/2. Sono mutanti con *ampliamento della cerchia di ospiti*: T_2 è mutato in T_{2h} (l'h proviene dall'inglese *host range* = cerchia di ospiti).

Adesso abbiamo ottenuto due fagi mutanti, cioè le forme r ed h. Perché non tentare

un *esperimento di ricombinazione*? Dovrebbe riuscire, poiché la medesima cellula batterica può essere infettata contemporaneamente da due fagi diversi. Ed infatti l'esperimento riesce. Tra i discendenti, accanto a forme identiche a quelle dei "genitori", compaiono ricombinanti che sono al tempo stesso r ed h. Di qui all'allevamento di mutanti diversi, possibilmente numerosi, il passo è breve. Si effettuano incroci, si prendono in considerazione le percentuali di ricombinazione e si compongono "mappe genetiche", o genomiche (conosciamo già la regione r II da p. 101). Il DNA dei fagi, e non solo quello del fago T_2 , si comporta negli esperimenti di ricombinazione come un genoma; siamo senz'altro autorizzati a parlare di un *genoma fagico*, che contiene tutte le informazioni necessarie al fago, ma non può replicarsi da sé solo, avendo bisogno per questa funzione di una cellula batterica. Sfortunatamente per la cellula batterica infettata, questa non sa riconoscere il genoma estraneo come tale, lo scambia con il proprio, gli concede anzi diritto di precedenza: si consuma fino alla morte al servizio di uno straniero.

I fagi ammansiti

Per alcuni anni il comportamento dei fagi — qui sopra descritto — è stato considerato talmente tipico e generale, da non pensare di doverlo distinguere con un nome particolare. In seguito però si è scoperto un altro tipo di fagi, che si comporta in modo molto più pacifico. Sono detti oggi fagi "temperati", cioè "fagi moderati", mentre ai primi, che rappresentano il tipo più pernicioso, si riserva il termine di *virulenti* (o *litici*).

Quando un fago temperato penetra in un batterio, può comportarsi come un normale fago virulento e causare così la distruzione della cellula ospitante, oppure può anche firmare un trattato di pace con la cellula batterica. Rimane sì nella cellula, ma asso-

ciato, integrato col genoma del batterio (i pirati si convertono e si arruolano nell'equipaggio della nave assalita). Da parte sua la cellula batterica tratta il genoma fagico come parte del proprio, replicandolo e trasmettendolo ai suoi discendenti.

La cellula ospitante ed i suoi discendenti portano perciò in seno il fago, che rimane però inoffensivo. Sono entrambi trasformati: il fago è domato, e prende il nome di *profago*, mentre la cellula batterica, che rimane intatta e non subisce lisi, prende il nome di *cellula lisogena*.

Questa terminologia lascia però trapelare qualcosa d'infuato. Profago significa "sostituto di un fago", e lisogeno "che provoca una lisi". Che il significato di tutto ciò sia solo una pace provvisoria, e che i pirati si siano ammansiti soltanto in apparenza meditando un ammutinamento?

Prima di rispondere a questa domanda bisogna ancora chiarire due cose:

1. Il verdetto, se un fago infettivo debba diventare virulento oppure migrare nel genoma del batterio, *non dipende dal fago*, bensì dalla cellula ospitante, o meglio dalle condizioni esterne ed interne in cui si trova la cellula infettata. In una cellula lisogena il fago non può fare altro che comportarsi in modo pacifico.

2. Una cellula lisogena, che porta in sé un fago sotto forma di profago, è protetta contro ogni altra infezione, è diventata *immune*; non è escluso però che talvolta possa incorporare nel suo genoma un secondo fago, della medesima o di altra specie. Si è scoperto un ceppo di batteri (di stafilococchi, gli agenti patogeni del pus) che contiene non meno di 5 differenti profagi.

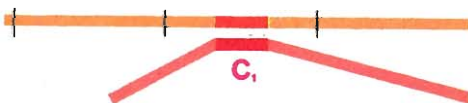
Torniamo ora al quesito se la pace sia o non sia duratura. In realtà non lo è. Ad un certo momento, per ragioni a noi ancora ignote, il fago abbandona il genoma batterico, diventa virulento e provoca la lisi della cellula fin qui lisogena.

Molti ceppi di fagi temperati possono essere resi virulenti con artifici, ad esempio col-

l'uso di radiazioni ultraviolette o con trattamenti mediante reagenti chimici. Però è possibile anche il contrario, ossia che una cellula batterica lisogena espella il profago e risani. Si può anche "curarla" provocando "artificialmente" questo risanamento.

Tutto ciò è piuttosto intricato, specialmente per le numerose possibilità di cambiamenti. E non possiamo liquidare i fagi temperati come semplici curiosità o come manifestazioni di scarsa importanza. Vale il contrario, e per due ragioni. La prima è, per così dire, di ordine statistico: sembra oggi quasi certo che lo stato lisogeno (la "lisogenicità") sia molto diffuso e debba essere considerato la condizione normale, e non un'eccezione più o meno rara.

Prima di approfondire la seconda ragione, occorre invece chiarire in che modo ed in che punto il profago si stabilisca nella cellula lisogena. Si sistema certamente nelle vicinanze immediate del genoma batterico, ed è molto probabile che non sia incluso *nel* genoma batterico, ma che vi rimanga addossato e aderente (inglese *attached*) per un tratto ben preciso, a guisa di appaiamento duraturo, e a somiglianza di quanto avviene nella coniugazione dei cromosomi durante la meiosi. In questa posizione il profago è *ereditato come un gene del batterio*. Inoltre è ammesso che non si appaia su tutta la sua lunghezza, ma solo con un tratto mediano (regione C_1), mentre le estremità laterali rimangono libere. (Questo appaiamento probabilmente permette talvolta al profago, quando passa allo stadio virulento, di asportare un piccolo frammento di genoma batterico; più avanti ritorneremo su questo fatto.)



Il genoma fagico (rosso) si attacca al genoma batterico (arancione) solo mediante il tratto C_1 .

Se il profago assume l'aspetto di un gene batterico, difficilmente possiamo spiegarci perché non si comporti come un fago virulento, che si moltiplica in continuità producendo poi una lisi, ma segua supinamente il comportamento degli altri geni batterici. Sembra che un certo fattore, *non* appartenente al genoma, ma al citoplasma che lo circonda, ostacoli la sua continua automoltiplicazione. Esso *reprime* l'attività del profago, ed è quindi chiamato *repressore* (dovremo occuparci ampiamente anche dei repressori al cap. 4°). Se poi questo repressore è distrutto, ad esempio mediante raggi ultravioletti, il fago viene "indotto", passa nel citoplasma ed inizia l'automoltiplicazione, diventando così un fago virulento.

A quanto sembra si è qui scoperto un nuovo tipo di fattori genetici che possono comparire nel genoma, oppure liberi nel citoplasma. Sono numerosi, come ad esempio il "fattore sessuale" nei batteri (*vedi* a p. 127) e l'**RTF (Resistance Transfert Factor** = fattore che trasmette resistenza), il terrore di tutte le cliniche (*vedi* a p. 132): per tali unità ereditarie si è creato il concetto di *episoma*. Ne accenniamo qui solo in breve, per discuterne in seguito diffusamente.

Ritorniamo al repressore: è detto sovente fattore d'immunità, in quanto si deve probabilmente alla sua presenza che cellule infettate con un profago (cellule lisogene) siano di regola diventate immuni contro il ripetersi dell'infezione da parte dello stesso fago. Questa immunità naturalmente non va messa in relazione con i fattori immunitari e le reazioni immunitarie del cap. 6°. Non intendendo limitarci a questi brevi cenni, ma approfondire l'argomento, ci troveremo ben presto di fronte ad una delle più recenti scoperte, quella dell'*interferone*. Si è visto che, secondo la norma, la presenza del repressore ostacola un'ulteriore penetrazione nella cellula di altri profagi di *stessa* tipo. Invece altre specie di fagi non sono ostacolate; in tal modo sono possibili infe-

zioni doppie, che del resto abbiamo già utilizzato per esperimenti di ricombinazione. Esistono però ancora altre possibilità:

1. Il secondo fago riesce a penetrare nella cellula infettata, ma non riesce ad inserirsi nel suo ricambio; la concorrenza del primo fago è troppo forte.

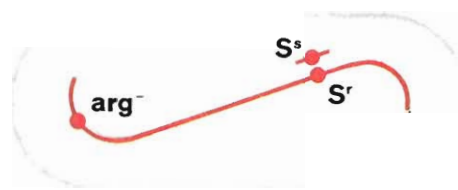
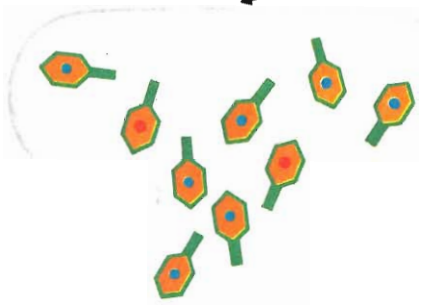
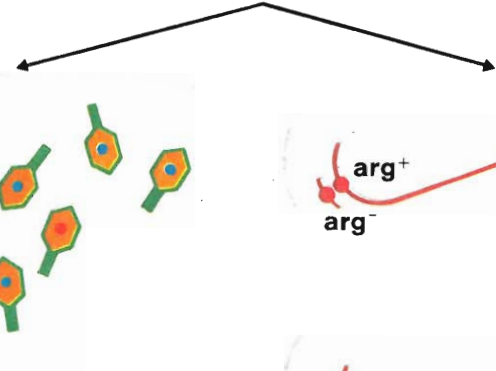
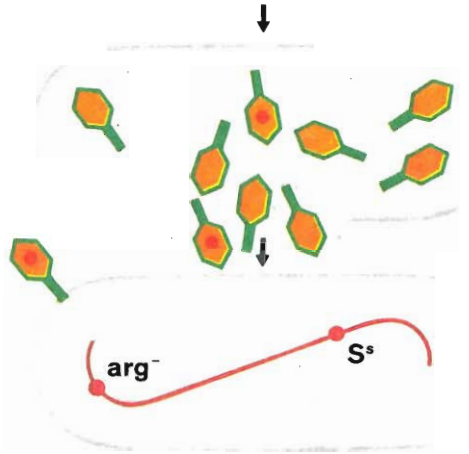
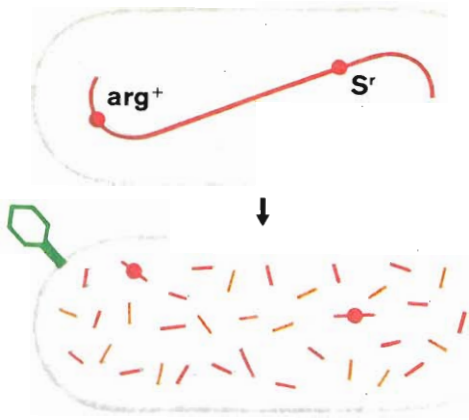
2. Il primo fago produce una sostanza, detta *interferone*, che non solo impedisce la moltiplicazione del secondo fago, ma si diffonde nelle cellule vicine della stessa specie di batterio (non di altra specie!) rendendole immuni contro numerosi altri tipi di fagi. Non si sa ancora come funzioni l'*interferone* in questa sua azione, e se si identifichi o no col suddetto repressore. Ma gli effetti sono estremamente importanti, poiché l'*interferone* è specifico per la specie ospitante, ma non nei confronti dei virus. Con gli anticorpi, che impareremo a conoscere come fattori d'immunità, avviene proprio il contrario: sono fattori specifici contro un tipo di virus o di batterio ben determinato e possono essere trasferiti non solo da un individuo all'altro, ma da una specie ospitante all'altra (vaccinazione!). *Interferone* ed anticorpi si comportano in modo complementare. Forse un giorno potremo utilizzarli combinati per una migliore difesa dalle infezioni.

2.12 I fagi trasportano geni estranei

La trasduzione

L'affermazione che il profago possa asportare e trattenersi un piccolo frammento del genoma batterico (*vedi* a p. 117) merita una discussione più approfondita. Nel 1952 fu appurato che è veramente così, ma non con *Escherichia coli* (successivamente si riuscì anche con questo batterio), bensì con *Salmonella typhimurium*, del tifo nei topi.

Numerosi sono i mutanti della forma selvatica di questo batterio: ne esiste uno che non può sintetizzare da sé stesso l'arginina (arg-), e un altro che è streptomycinore-



Trasduzione: il fago incorpora geni appartenenti al primo ospite e li trasferisce nelle cellule e nei genomi del secondo ospite.

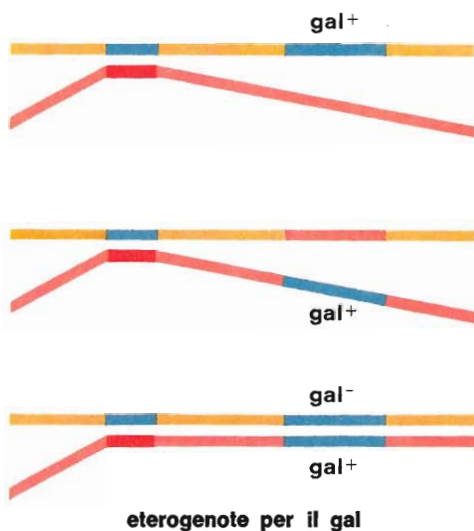
sistente (S^r). Procuriamoci le seguenti combinazioni di mutanti (nel prossimo paragrafo vedremo come ciò sia possibile): $arg-S^s$ e arg^+S^r . Lasciamo poi che in questo secondo mutante si sviluppi intensamente il fago P_{22} . Con i fagi così ottenuti si contagia il primo ceppo, che è $arg-S^s$, e si alleva su piastre di agar prive di arginina o contenenti streptomicina. In entrambi i casi compaiono colonie isolate (circa 1 su 100.000): qualche cellula batterica è diventata arg^+ e S^r , ed è stato proprio il fago a trasmettere questi geni provenienti dall'ospite che aveva infettato per primo.

Succede di rado che entrambi i caratteri siano trasmessi contemporaneamente, anzi in certi casi è da escludere, e si capisce anche facilmente il perché. Si è potuto calcolare (vedi anche a p. 223) che un genoma batterico è circa 100 volte più lungo di un genoma fagico, e perciò in ogni caso possono essere trasportate insieme solo quelle strutture geniche che distano meno di un centesimo della lunghezza totale del genoma batterico. Naturalmente è molto più facile per gruppi più ravvicinati. (Ricordiamo, solo per inciso, che in questo modo si è scoperto uno strumento, un "metro", prezioso per comporre mappe genetiche di batteri.)

È stato così dimostrato che con la partecipazione di fagi compaiono delle ricombinazioni; questo fenomeno si dice *trasduzione* (cioè trasferimento). Ma come si svolge questo processo? Il caso più semplice sarebbe senza dubbio quello in cui il fago P_{22} , penetrato nel ceppo arg^+S^r , provocata la lisi e la frantumazione del genoma batterico, si appropri, durante la moltiplicazione e la maturazione, di un frammento di quest'ultimo. Questo frammento verrebbe poi semplicemente "appiccato" alla seconda cellula ospitante ($arg-S^s$). Ma in effetti non è così. Bisogna invece ammettere che il fago si accosti (vedi l'*attachement* della figura a p. 117) al genoma batterico, e che tra un'estremità libera del genoma fagico ed

il genoma batterico avvenga lo scambio di un frammento (crossing-over?). Adesso il fago porta, incorporato dentro di sé, un frammento di genoma batterico, ad esempio quello corrispondente all' arg^+ ; in cambio ha ceduto una parte del suo genoma originario a quello del batterio. Nella cellula che è infettata subito dopo, verosimilmente avviene il contrario, e cioè: il frammento del "vecchio" genoma batterico, che viene trasferito, contenente arg^+ , è scambiato con un pezzetto del "nuovo" genoma batterico, che invece è arg^- . Quest'ultimo batterio infettato (che dev'essere lisogeno perché avvenga la trasduzione), è così diventato arg^+ .

Vi è *trasduzione illimitata* quando ogni punto del genoma batterico può essere occupato e scambiato. La *trasduzione limitata* riguarda invece sempre e solo la regione gal (in cui risiedono geni che governano la



Eterogenosi: un genoma fagico (rosso) giunge in un batterio che possiede il gene *gal*⁺ (in alto). Incorpora, con scambio di frammenti, questo gene *gal*⁺ (al centro), e lo trasporta nella successiva cellula ospitante. Se questa è di per sé *gal*⁻, diventa "eterogenota per *gal*", in quanto ora possiede sia *gal*⁻ sia *gal*⁺ (in basso).

ermentazione del galattosio: gal⁺; gal⁻ significa quindi che questi geni sono stati "inattivati" con mutazione). Il trasportatore è il fago λ (lambda), che evidentemente può fissarsi solo accanto alla regione gal. (Fissarsi come profago! Perché quand'esso provoca subito la lisi di una cellula infettata, non può evidentemente servire per la trasduzione; quindi, prima di effettuare la trasduzione, deve trascorrere un periodo allo stadio di profago, cioè di adesione — *attachment* — al primo genoma batterico, dal quale poi sarà liberato per induzione con raggi ultravioletti.)

Non sappiamo ancora con precisione come mai il fago λ non sia libero nella scelta del punto di attacco al genoma batterico: probabilmente il profago e la zona adiacente alla regione gal si adattano l'uno all'altra come i cromosomi omologhi degli organismi superiori. Questa ipotesi trova conferma anche in un altro comportamento particolare del fago λ . In realtà esso non scambia il suo frammento di genoma batterico; per contro subisce una replicazione (col suo frammento gal) nello stesso modo e nello stesso tempo del genoma batterico.

Per analogia con il concetto di eterozigosi, a suddetta condizione si dice *eterogenosi*, ed in questo caso speciale si tratta di un "eterogenote per la regione gal".

Da ultimo dobbiamo ancora citare un caso particolare di trasduzione, che riprenderemo quando tratteremo dei già citati episodi. Si chiama *trasduzione abortiva*, in cui il frammento di genoma batterico trasportato non è scambiato; rimane nella cellula, ma *senza moltiplicarsi*, ed è tuttavia efficiente. Quindi nella successiva divisione cellulare soltanto una delle cellule figlie può ricevere questo frammento, l'altra ne rimane priva. Dopo numerose divisioni cellulari, tutte le cellule del clone sono *senza frammento*, ad eccezione di una. Ne deriva un esperimento interessante; bisogna però riuscire ad individuare un frammento di genoma che sia preposto alla formazione di

un flagello. Questo viene "trasdotto" in una cellula priva di flagello, la quale quindi si accinge a formarne uno diventando così mobile! Ma ad ogni divisione abbandona una cellula senza flagello, la quale rimane immobile e dalla quale si sviluppano colonie pure immobili. In tal modo, osservando la posizione delle colonie figlie immobili che lascia alle sue spalle, possiamo seguire questa unica cellula flagellata.

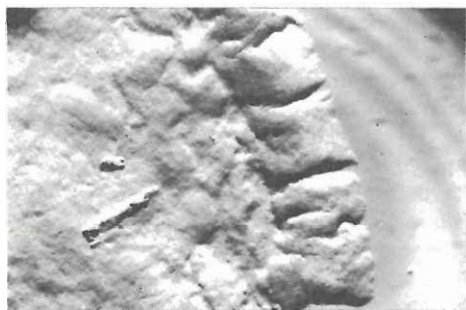
2.13 Geni indipendenti?

La trasformazione

Mentre nella trasduzione i frammenti di genoma sono trasportati da una cellula ospitante ad un'altra con l'aiuto di fagi, questi ultimi sono invece superflui nella *trasformazione*: i frammenti di genoma trovano da sé soli la via alla cellula e al suo genoma. Il punto di partenza fu una scoperta di Griffith del 1928, considerata oggi una pietra miliare nella storia della genetica (mentre in un primo tempo appena vi si fece caso). Certe specie di pneumococchi — ai quali appartengono gli agenti patogeni della polmonite — possiedono allo stato virulento una parete cellulare resistente (capsula). Coltivate su agar, formano colonie brillanti e a contorni lisci (in inglese *smooth*, da cui il simbolo S, che qui non indica beninteso la streptomicina). Le cellule dei ceppi mutanti perdono sovente la facoltà di formare la capsula; le loro colonie hanno aspetto opaco e ruvido (in inglese *rough*, da cui il simbolo R). Frattanto hanno anche perso la virulenza, sono diventate forme non patogene e, inoculate a topi, non provocano conseguenze dannose. Ma se inoculiamo contemporaneamente anche cellule S uccise, buona parte degli animali da esperimento muore di setticemia. Dal loro sangue si possono isolare pneumococchi che, seminati su terreni di coltura, dimostrano di essere cellule S ad ereditarietà costante. Evidentemente un costituente cellulare è



Le forme S o R si possono distinguere anche ad occhio nudo: le colonie dei batteri S sono brillanti e lisce, *smooth* (in alto), quelle dei batteri R sono opache e rugose, *rough* (in basso).



passato dalle cellule S *uccise* alle cellule R *vive*, "trasformandole" in S.

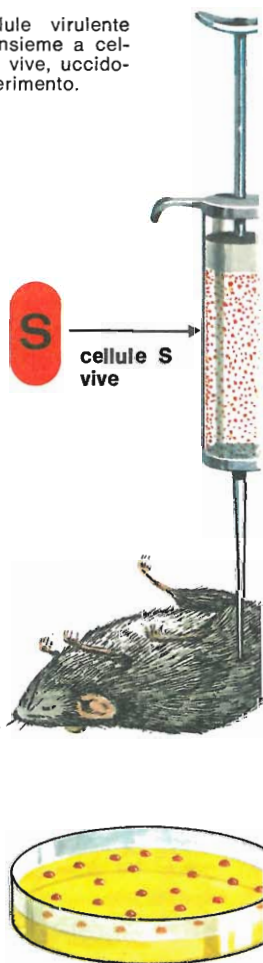
In seguito si è appurato che la trasformazione si compie anche in assenza di un animale ospitante, cioè in provetta (1931), o addirittura in un estratto privo di cellule (1933), cioè solo con frammenti di cellule batteriche. Ma solo nel 1944 fu possibile dimostrare inequivocabilmente che alla base della trasformazione c'era il DNA. Il processo della trasformazione si può arrestare unicamente con l'azione dell'enzima desossiribonucleasi che demolisce il DNA. (Fino allora si era sempre cercata la "sostanza ereditaria" tra le proteine; con questi esperimenti fu invece dimostrato per la prima volta in modo incontestabile che essa è costituita dal DNA.)

Nel frattempo si sono scoperti molti altri

casi di trasformazione, ad esempio in *Hae mophilus influenzae*, che fu la causa principale della grande epidemia influenzale alla fine della prima guerra mondiale. Che avviene in questo processo? Dobbiamo subito sdoppiare il quesito in due parti:

1. *Sotto quale forma* il materiale genetico della cellula "donatrice" è trasmesso alla cellula "ricettrice"? e
2. come è *incorporato* questo materiale nel genoma della cellula ricettrice? Diciamo in

Trasformazione: cellule virulente S, uccise, iniettate insieme a cellule non patogene R, vive, uccidono l'animale da esperimento.

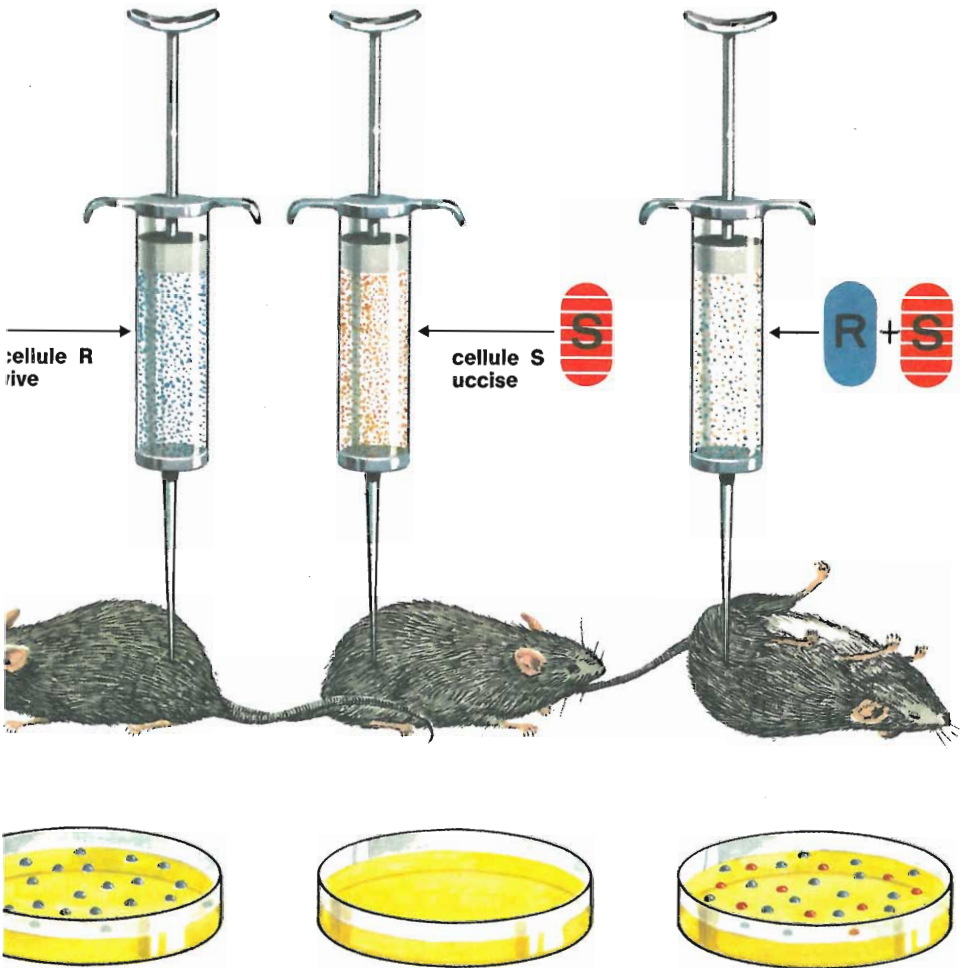


orporato, in quanto altrimenti non si spiegherebbe come i discendenti della cellula trasformatasi risultino a caratteri costanti nella loro discendenza.

Al primo luogo consideriamo le dimensioni del DNA trasferito. Nella preparazione (frantumazione delle cellule nell'omogeneizzatore), il genoma batterico originale si scompone abbastanza uniformemente in frammenti dal peso molecolare di 5 milioni, il che corrisponde all'incirca a frammenti che

variano da 1/200 a 1/500 del genoma intero. (Siccome nell'esperimento citato il gene S è evidentemente l'unico gene che distingue le cellule donatrici da quelle ricettrici, solo un frammento ogni 200-500 dovrebbe contenere questo gene e poter partecipare ad una trasformazione.)

Sembra che piccoli frammenti, all'incirca di peso molecolare 500.000, non siano utilizzati, o almeno rimangano senza effetto. Anche il DNA a filamento unico (che si può



fabbricare artificialmente) non è assunto. E così succede lo strano fenomeno, non ancora affatto spiegato, dell'assunzione di sole doppie eliche, mentre in pratica soltanto uno dei due filamenti è necessario per una trasformazione. Inoltre l'assunzione avviene senza difficoltà e rapidamente: 10 secondi sono sufficienti al DNA per penetrare nelle cellule e per sottrarsi così all'azione di eventuale desossiribonucleasi presente esternamente.

Passiamo ora alla seconda parte del quesito, che riguarda l'*incorporazione nel genoma* della cellula ricettrice. Il primo passo è certamente un *appaiamento*, una coniugazione dei tratti omologhi dei genomi batterici, corrispondente all'incirca alla fase di zigotene della meiosi. Ne consegue uno *scambio di frammenti*, come se si trattasse di una specie di crossing-over, con rottura e con successiva saldatura incrociata, esattamente come accade nella meiosi. (Ricordiamo però che in questo caso non abbiamo a che fare con cromosomi di organismi superiori, ma con doppie eliche di DNA soltanto.) Non conosciamo ancora i particolari del processo, e tanto meno sappiamo come questi frammenti trovino la via per raggiungere il punto omologo del genoma. È certo però che l'incorporazione del frammento di genoma estraneo si compie anche quando non è accompagnata da sintesi di DNA. Quindi in apparenza questo *non* sarebbe un caso di meccanismo di scelta di copia (vedi a p. 99).

Se per le cellule R il riacquisto del fattore (gene), che regge la formazione della capsula e la comparsa della virulenza, può essere molto importante, per il paziente un simile esperimento potrebbe avere conseguenze fatali. Ma l'esperimento riesce anche in senso inverso (cioè $S \rightarrow R$): infatti cellule R trasformate in cellule S possono essere *ritrasformate* in cellule R.

Ma c'è di più: si può riuscire ad introdurre di soppiatto e senza tante difficoltà in una cellula ricettrice una quantità di altri geni,

mutati o no; si può corredare una cellula ricettrice a volontà con "geni ben determinati". Infine non dimentichiamo che la trasformazione è uno strumento di grande interesse clinico e di valore genetico inestimabile, specialmente nelle questioni di ricombinazione. Queste si complicano notevolmente con l'intervento di fagi (trasduzione) o di genomi batterici completi (coniugazione, vedi prossimo paragrafo).

Per concludere sul nostro tema ricordiamo che esiste, quale sistema parasessuale che permette ricombinazioni, anche la trasformazione oltre alla trasduzione.

2.14 Coniugazione di batteri

I mutanti batterici si ottengono stampinando

Il terzo, ed ultimo, per ora, sistema parasessuale si fonda sulla coniugazione, scoperta circa vent'anni fa e nel frattempo ampiamente chiarita. Questi progressi furono facilitati notevolmente dall'applicazione di un metodo di selezione, detto anche *tecniche del tampone*, che è bene descrivere in breve.

Volendo compiere esperimenti di ricombinazione (incrocio) è necessario disporre di numerosi mutanti, possibilmente ben definiti. Un tipo di mutanti ben caratterizzabile e perciò anche facilmente riconoscibile, è quello dei *mutanti biochimici*. Normalmente i batteri — come anche il fungo *Neurospora crassa*, dal quale furono isolati i primi mutanti biochimici — possono fabbricare da se stessi quasi tutte le sostanze organiche necessarie alla loro crescita, e cioè per esempio i 20 aminoacidi, tutte le vitamine, eccetera. Questi tipi selvatici possono mutare in forme, come si dice, *auxotrofe* (dal greco *auxe* = accrescimento e *trofé* = nutrimento), che hanno perso la facoltà di sintetizzare determinate sostanze, come potrebbero essere aminoacidi o vitamine. Perché possano svilupparsi, è neces-

sario *aggiungere* queste sostanze al terreno di coltura minimo⁵.

Se queste mutazioni riguardano ad esempio l'aminoacido istidina (his) o la treonina (thr) o la lisina (lys), l'organismo è diventato his⁻ (istidino-negativo = bisognoso di istidina), o thr⁻ o lys⁻; se non potesse più utilizzare il galattosio, sarebbe diventato gal⁻. Perciò questi mutanti sono facilmente isolabili e riconoscibili.

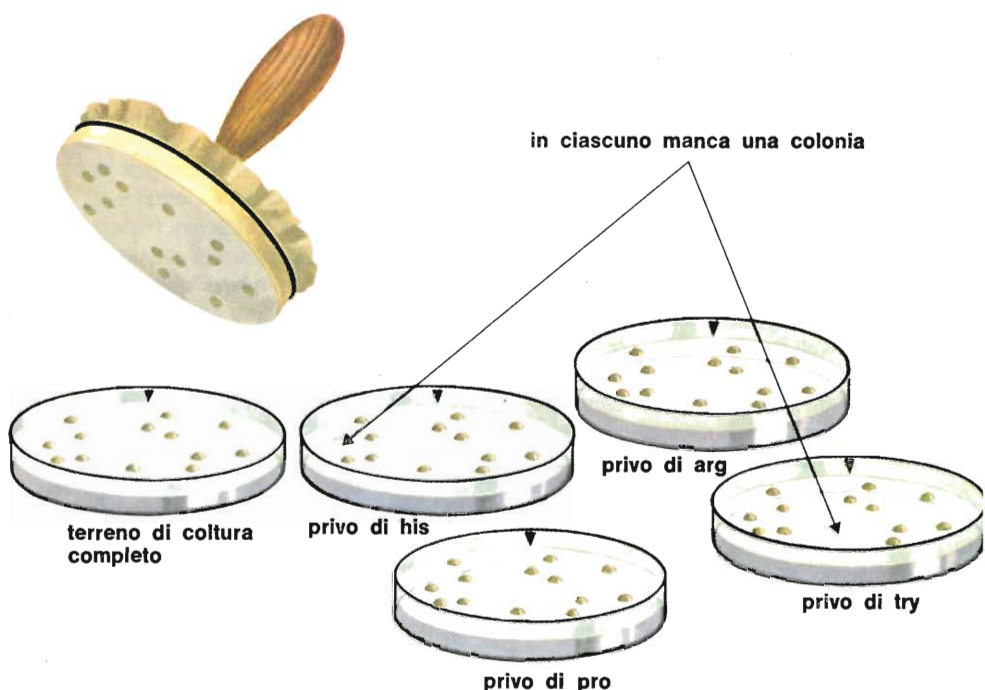
Per prima cosa, in un'abbondante popolazione del tipo selvatico si provoca, trattandola con raggi ultravioletti o con acido nitroso, la formazione di mutanti, possibilmente numerosi e costituenti una miscelanza disordinata dei tipi più disparati. Ora occorre separare le cellule batteriche mutate da quelle del tipo selvatico rimaste immutate. Per attuare questa selezione si usa la penicillina, che ha la proprietà di uccidere solo cellule che stanno dividendosi. Se trasportiamo la popolazione trattata in un mezzo nutritivo fluido, completamente privo di aminoacidi ma contenente penicillina, si potrebbe sviluppare la sola forma selvatica, se non fosse eliminata dalla penicillina non appena le sue cellule mature si accingono alla divisione. Questa sorte non tocca alle cellule mutanti, che hanno fabbisogni specifici di determinati aminoacidi. Infatti, in un mezzo di coltura privo di aminoacidi, mancando a ciascuna, in ogni caso, almeno un aminoacido, non possono crescere e di conseguenza neppure dividersi: ciò permette loro di sopravvivere indisturbate dalla penicillina. Dopo un lavaggio a fondo per eliminare le cellule morte e la penicillina, rimangono solo più le cellule mutate.

Queste si seminano su di un terreno di coltura solido, ad esempio in una capsula di Petri con agar. Questa volta però il terreno di coltura contiene tutti i 20 aminoacidi ("terreno integrale"), quindi le cellule mutate possono svilupparsi. Si possono già osservare il giorno dopo ad occhio nudo colonie puntiformi o a disco. Si prende allora un vero e proprio stampino, che entri esat-

tamente nella capsula di Petri e la cui superficie sia rivestita da un velluto sterilizzato. Il terreno di coltura ricoperto di colonie fa le veci del tampone, e sui peli del velluto rimangono attaccate alcune cellule di ogni colonia. Con lo stampino così infettato si timbra una nuova piastra di agar sterile, in modo da trasferirvi i batteri che sono rimasti attaccati al velluto, in posizione corrispondente a quella della loro colonia nella prima piastra, cioè sul tampone. Il punto chiave di questa operazione consiste nel fatto che le piastre di agar fresche non contengono tutti i 20 aminoacidi, ma solo 19; ogni volta ne manca uno, sempre diverso. Questo procedimento rassomiglia molto alla tecnica usata per decifrare il codice degli aminoacidi (vedi cap. 1°); anche allora si erano usati 19 aminoacidi normali mentre il ventesimo era radioattivo (vedi a p. 60). Nell'esempio della figura a p. 126 si è operato prendendo in considerazione l'istidina (his), l'arginina (arg), il triptofano (try) e la prolina (pro). Le frecce indicano i punti dove ora manca una colonia: le sue cellule avrebbero avuto bisogno, per svilupparsi, di quell'aminoacido specifico che manca in questo terreno di coltura, e perciò non possono crescere. È ora sufficiente rintracciare sul "tampone" le colonie corrispondenti ai punti di mancato sviluppo sulla nuova piastra, per poter sapere quale colonia sia his⁻ o try⁻ (in questo esperimento non sono comparse colonie arg⁻ e pro⁻). Le colonie sono isolate e lasciate moltiplicare, ottenendo in questo modo dozzine di ceppi "marcati", sufficienti per compiere incroci d'ogni genere.

"Sessualità asimmetrica"

I batteri si possono effettivamente incrociare. Se mettiamo a contatto cellule di due differenti ceppi auxotrofi di *Escherichia coli* K₁₂, ritroviamo tra i discendenti dei mutanti ricombinati, divenuti auxotrofi doppi, ed altri simili al tipo selvatico ("prototrofi" = "anau-



Se con uno stampino impregnato di batteri provenienti da un terreno di coltura integrale, si bolano successivamente terreni di coltura con carenza di fattori di crescita (manca ogni volta un aminoacido), si possono mettere in risalto dei mutanti che necessitano per svilupparsi dell'uno o dell'altro aminoacido, cioè di "mutanti biochimici".

xotrofi"). All'opposto di quanto avviene nella trasduzione, in cui dei batteriofagi trasportano un frammento di genoma batterico da cellula a cellula, ed anche all'opposto di quanto succede nella trasformazione, dove frammenti liberi di genoma migrano in una cellula ricettrice, *nella coniugazione è necessario il contatto diretto di due cellule batteriche*. Infatti se i due ceppi che desideriamo incrociare sono tenuti separati in un tubo ad U mediante un filtro di vetro, che lasci passare fagi e frammenti di genoma ma non cellule batteriche intatte, le ricombinazioni non avvengono più. Il microscopio elettronico ha dimostrato che un simile contatto esiste realmente; un sottile ponte, si suppone di citoplasma, e contenente forse anche DNA, unisce le due cellule. Tuttavia

non si giunge, come negli organismi nucleati, ad una fusione di nuclei o di cellule intere, ad una fecondazione come se si trattasse di uovo e spermatozoo. Le due cellule invece dopo un certo tempo si staccano: di qui l'espressione *coniugazione*. Durante la coniugazione si deve compiere uno scambio di materiale genetico, altrimenti non si potrebbero spiegare le ricombinazioni. Se a questo punto possiamo scorgere aspetti in comune, non senza qualche netta diversità, col sistema sessuale meiotico, fra poco incontreremo fenomeni sorprendenti molto complicati, propri *solo* dei batteri. In primo luogo si riscontra un fatto deludente. Solo una cellula su un milione, e talvolta solo una su dieci milioni, costituisce una vera mutazione da ricombinazione

In compenso essa mostra realmente una discendenza "costante". D'altra parte è stato accertato che queste cellule non erano ritornate alla prototrofia in seguito ad una eventuale retromutazione, e che non si erano formate in modo diverso.

Altri esperimenti con i mutanti più disparati dimostrarono che tutti i geni sono riuniti in un unico gruppo concatenato, che cioè il genoma è costituito da un'unità "lineare" (oppure in parole povere ma non proprio esatte, che i batteri possiedono solo un cromosoma). Ma quando, per cercar di mappare il genoma, si incominciarono a calcolare in percentuale le frequenze di ricombinazione in questo concatenamento, si vide che non concordavano con l'ipotesi di una struttura a semplice segmento lineare. Quali potevano esserne le ragioni?

La prima osservazione importante fu che le ricombinazioni si effettuano sempre e

solo in una delle due cellule coniuganti, e che per ottenere una discendenza di ricombinanti è necessaria la sopravvivenza di questa cellula soltanto. Ritroviamo qui il sistema donatore-ricettore. Una cellula donatrice trasferisce materiale genetico in una cellula ricettrice: *la via non può essere percorsa in senso contrario*. Coniugazione significa in questo caso "processo a senso unico", o *sessualità asimmetrica*.

La seconda osservazione è che esistono due tipi nei vari sotto-ceppi di *Escherichia coli* K₁₂. Alcuni non possono incrociarsi fra di loro e perciò neppure produrranno ricombinanti; sono denominati F⁻ (F meno, a fertilità negativa, sterili). Gli altri si coniugano tra di loro e *specialmente con tutti i ceppi F⁻*, ed appartengono al gruppo F⁺ (F più, a fertilità positiva, fecondi). Perciò:

$F^- \times F^- \rightarrow$ sterile

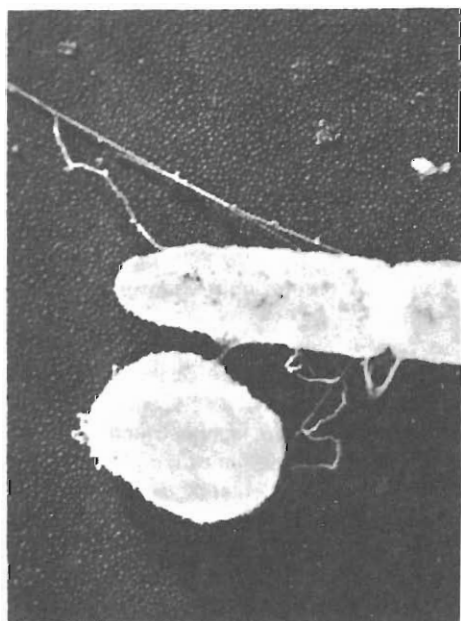
$F^+ \times F^- \rightarrow$ fertile, come anche

$F^+ \times F^+ \rightarrow$ fertile, ma molto meno di $F^+ \times F^-$.

Ne consegue (come pure da altri esperimenti che non è il caso di citare), che *le cellule F⁺ sono donatrici e le cellule F⁻ ricettrici*⁶. Ma chi determina se una cellula debba diventare donatrice o ricettrice?

La risposta ci è fornita da una scoperta avvenuta indipendentemente in vari laboratori. Col contatto fra una cellula F⁺ ed una F⁻, quest'ultima diventa donatrice, cioè F⁺! Viene quindi trasmesso un *fattore F* (di fertilità), ed invero con estrema facilità. Già dopo un'ora tutte le cellule F⁻ sono diventate F⁺, mentre la proporzione dei ricombinanti è soltanto di 1 su 1.000.000! Il fattore F perciò è trasmesso *indipendentemente* dal normale genoma batterico ("cromosoma").

Il fattore F può senz'altro essere considerato *fattore della sessualità*; se è presente, le cellule sono F⁺, se è assente sono F⁻. È strano e sorprendente che una piccola quantità di cellule F⁺ sia sufficiente per far diventare cellule donatrici in brevissimo tempo tutte le cellule F⁻ accessibili. Questo processo si svolge molto più rapidamente



Coniugazione: un ponte plasmatico formatosi fra due batteri permette il trasferimento di materiale genetico (foto al microscopio elettronico).

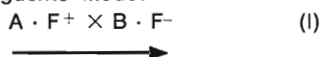
della moltiplicazione degli stessi batteri. Il *fattore sessuale si moltiplica in modo indipendente e più rapido dei batteri* e si diffonde nella popolazione ricettrice come un'epidemia. (Torneremo sulla questione dell'epidemia.) D'altra parte il fattore F può perdersi irrimediabilmente in modo spontaneo, oppure con irradiazione o con trattamento mediante coloranti acridinici(!).

Tutto quanto precede fa pensare che questo fattore sia un *fattore genetico* indipendente dal vero e proprio genoma batterico, un fattore che si replica in modo autonomo e che si moltiplica per conto suo. Quando una cellula donatrice lo perde, si trasforma immancabilmente in cellula ricettrice, fuor che torni a contatto con una nuova cellula donatrice.

Sarebbe un grave errore credere d'aver già chiarito la coniugazione. Non tarderemo a ritrovare il fattore F sotto nuova veste, ma dobbiamo prima parlare di un altro fenomeno, che è comparso, come tanti altri, affatto inaspettato. Si tratta della

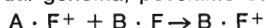
Trasmissione incompleta del genoma

L'incrocio fertile fra un ceppo A (donatore) ed un ceppo B (ricettore) si scrive correttamente nel seguente modo:

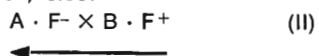


e si può compiere solo nella direzione della freccia, mai al contrario (per questo si parla di sessualità asimmetrica o "polare"). Esiste però — l'abbiamo appena conosciuta — una varietà del ceppo A che ha perduto il suo fattore sessuale (o di fertilità), ed è diventata F^- ; si scrive quindi $A \cdot F^-$.

Inoltre, sfruttando la capacità che ha un ceppo donatore di trasformare in un tempo brevissimo un ceppo ricettore in F^+ , mediante la trasmissione del fattore F e senza alcun trasferimento di materiale proveniente dal genoma, possiamo ottenere:



In questo modo abbiamo tramutato $B \cdot F^-$ in $B \cdot F^+$. A questo punto è possibile l'incrocio "inverso", cioè:

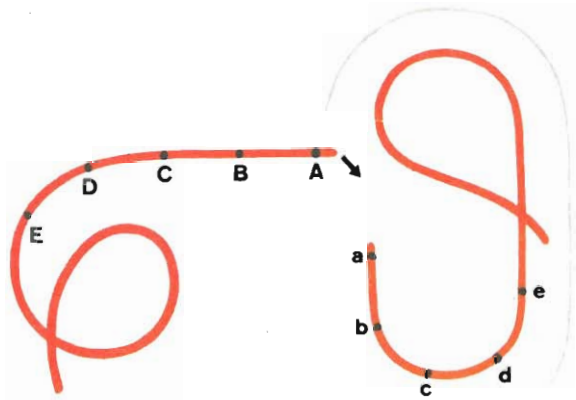


La direzione dell'incrocio è ora evidentemente contraria alla precedente.

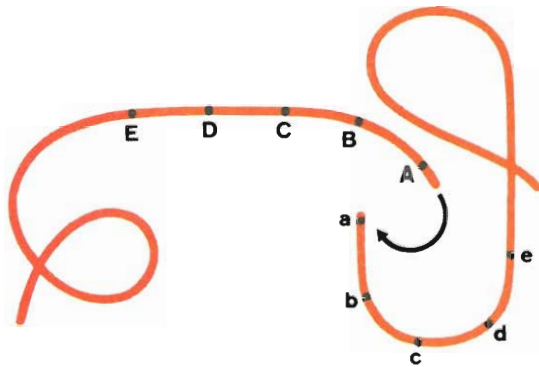
Alla fin fine nulla dovrebbe cambiare nei risultati: se il genoma A è trasferito nella cellula B (caso I), entrambi i genomi, A e B, si troveranno riuniti in quest'ultima; se invece è il genoma B ad essere trasferito nella cellula A (caso II), abbiamo di nuovo i due genomi riuniti, ma questa volta nella cellula A. Tuttavia i due gruppi differiscono in modo molto rilevante. Nella cellula ricettrice compaiono sempre solo pochi geni appartenenti al ceppo donatore, la massa principale essendo formata dal genoma della stessa cellula ricettrice.

Dopo alcune controversie iniziali, si è giunti presto all'esatta interpretazione del fenomeno: secondo la norma la cellula donatrice trasferisce nella cellula ricettrice *solo un frammento* del proprio genoma, e mai, fuor che in casi rarissimi, tutto il genoma. Il trasferimento è quindi incompleto, e risulta tale anche lo zigote che ne deriva, in quanto contiene *un solo* genoma completo (che è il suo: ricordiamo che la cellula era ricettrice), mentre riceve solo una parte dell'altro. È un "merozigote" (dal greco *meros* = parte).

Con l'ormai celebre esperimento della "coniugazione interrotta", è stata ben presto dimostrata la validità di ciò che in un primo tempo era mera supposizione. Volendo ripeterlo, dobbiamo anzitutto "fabbricarci un ceppo" (a p. 124 abbiamo visto che è possibile) che contenga nel proprio genoma i geni A, B, C, D ed E in fila, costituirlo come F^+ e farlo servire da donatore. Il ceppo ricettore è caratterizzato (marcato) con i corrispondenti alleli a, b, c, d, ed e. Nel corso di un incrocio indisturbato i ricombinanti compaiono, ponendo per $A = 100\%$,



dopo 8 minuti



dopo 9 minuti

Quanto più si mantiene il contatto tra due cellule batteriche, tanto più lungo è il frammento di genoma che è trasferito dalla cellula donatrice a quella riceptrice.

nelle seguenti percentuali: B = 90, C = 75, D = 45, ed E = 25. (Le cifre assolute sono però molto, molto più piccole!)

Adesso proviamo ad interrompere il processo di coniugazione, sottoponendo le cellule appaiate, dopo periodi di tempo diversi, all'azione di un mescolatore ad alta velocità di rotazione, perché le distacchi. Poi

si seminano su di un terreno di coltura e si fa il conteggio. Nei primi 8 minuti non succede assolutamente nulla. Dopo l'ottavo minuto compaiono i primi ricombinanti (visibili al più presto il giorno successivo su di una piastra di agar), con formule di composizione che sono in rapporto alla durata del contatto tra le cellule, ossia:

dopo 8 minuti	A b c d e
dopo 9 minuti	A B c d e
dopo 10 minuti	A B C d e
dopo 17 minuti	A B C D e
dopo 25 minuti, finalmente	A B C D E

Quanto precede si può solo spiegare ammettendo che durante la coniugazione il genoma, immaginato rettilineo, penetri con la sua estremità A nella cellula ricettrice introducendosi gradatamente, finché, dopo 25 minuti, vi si è anche trasferito il punto contrassegnato con E. Si potrebbe addirittura utilizzare questa tabella di marcia per compilare una mappa genomica.

Il supermaschio Hfr

Veramente avremmo dovuto introdurre prima il concetto di Hfr, poiché gli esperimenti ora descritti sono eseguibili solo con ceppi Hfr. Ma che cosa significa Hfr?

Tutti i ceppi Hfr che conosciamo derivano da popolazioni F^+ . Mettendo a contatto uno di questi con un ceppo F^- , si ottengono nella discendenza circa *mille volte più ricombinanti* che in un incrocio "normale" $F^+ \times F^-$. Per questa particolarità di comportamento tali ceppi furono detti Hfr = *High frequency of recombination*, ossia ad alta frequenza di scambio o di ricombinazione. Le cellule Hfr si comportano in effetti come supermaschi, ma unicamente in quanto riguarda la trasmissione del genoma. Infatti riescono solo raramente a provocare la trasformazione di cellule F^- in cellule F^+ , il che invece è facile alle cellule F^+ . Per di più, sovente, perdono la loro esuberante mascolinità, comportandosi allora come se appartenessero ad un "qualunque" ceppo F^+ (dal quale, d'altronde, sono state isolate). Se ne deduce che anch'esse possiedono il fattore della sessualità F, ma in una forma diversa dei ceppi F^+ .

La caratteristica dei ceppi F^+ è il moltiplicarsi del fattore sessuale *indipendentemente dal genoma*, mentre quella dei ceppi Hfr è *l'integrazione del fattore F nel geno-*

ma, e la sua possibilità di moltiplicarsi unicamente con questo. (L'evidente parallelismo tra fagi virulenti e profagi sarà discusso tra breve.) Questo spiega perché i discendenti di un incrocio $Hfr \times F^-$ rimangano ricettori e non diventino mai F^+ . Qualche rara volta, certamente, possono anche divenire cellule Hfr, non solo negli zigoti, ma anche in tutti i loro discendenti. Ci possiamo chiedere se la spiegazione di questi fatti debba ricercare nella posizione *terminale* nel genoma della cellula Hfr, del fattore F, il quale in tal modo funzionerebbe come organo propulsore del genoma stesso nella cellula ricettrice. Questa, se fosse così, sarebbe trasformata in Hfr solo dopo il trasferimento *completo* di tutto un genoma unitamente al fattore F: ciò avviene molto di rado. Più oltre esamineremo questa circostanza.

Il genoma batterico si morde la coda

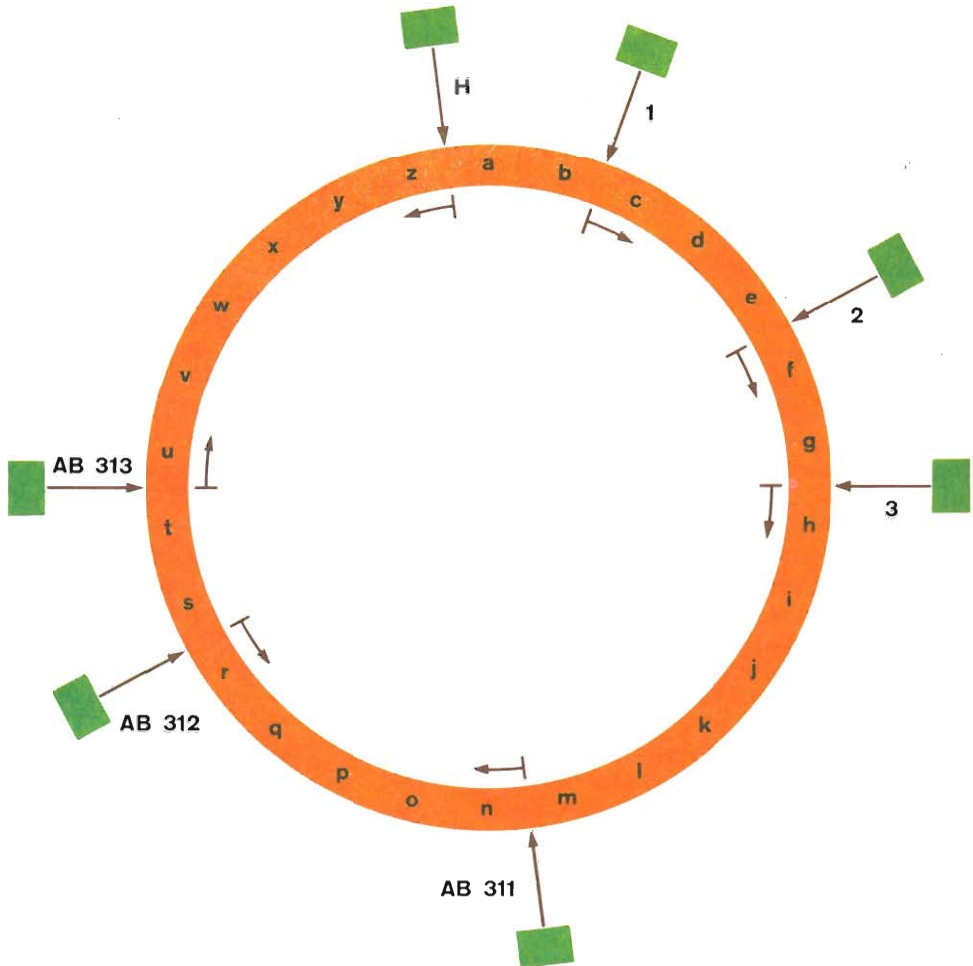
Il sistema sessuale di *Escherichia coli* e di altri batteri differisce notevolmente dal sistema meiotico; quindi non stupisce che sul principio le percentuali di ricombinazione apparissero contraddittorie e che non si riuscisse a compilare delle mappe genetiche. E le difficoltà non diminuirono dopo la scoperta, avvenuta nel frattempo, del trasferimento incompleto del genoma, e neppure tenendo conto delle complicazioni provocate dal fattore sessuale. Se indichiamo i geni che si susseguono nel genoma con le lettere a, b, c, ... x, y, z, ci dovremmo aspettare che una ricombinazione (scambio di frammenti) tra a e z, situati alla massima distanza, sia particolarmente frequente: in effetti talvolta succede, ad esempio nel ceppo Hfr H. In altri la percentuale di ricombinazione invece è estremamente bassa, quindi bisognerebbe all'opposto concludere che a e z sono localizzati uno accanto all'altro. Riportiamo di seguito diversi ceppi Hfr con l'indicazione della successione dei geni come questi vengono trasferiti:

H	a b c d e f g
1	b a z y x w v u
2	e d c b a z y x
3	g f e d c b a z
AB 311	m l k j i h g f e
AB 312	s t u v w x y z a
AB 313	t s r q p o n m

può essere solo spiegato ammettendo che il genoma batterico non sia "lineare" e disteso, ma a forma "di anello", in modo che a e z siano direttamente collegati. (Che si tratti *realmente* di un anello avevamo già riscontrato nella figura a p. 70.)

La differenza tra i vari ceppi Hfr è dovuta all'intervento del fattore F, che spezza i rispettivi "genomi circolari" in punti diversi

Apparentemente, e questa per il momento è l'ultima sorpresa, tutto quanto si è detto



Genoma di forma circolare di un batterio. Le frecce indicano i punti in cui il fattore F (verde) spezza l'anello e la direzione di trasferimento del genoma, che è spinto nella cellula ricettrice.

(beninteso, sempre nello stesso punto per lo stesso ceppo), e che si colloca ad una delle due estremità del genoma batterico, spingendo l'altra nella cellula ricettrice. La figura a p. 131, schema dell'anello del genoma coi geni a, b, c, ... x, y, z, mostra i punti d'inserimento del fattore F per tutti i ceppi, dall'H all'AB 313 menzionati sopra, ed indica la direzione in cui il genoma spezzato è spinto innanzi.

Il trasferimento è completo solo quando il fattore Hfr ha spinto ed introdotto tutto il genoma nella cellula ricettrice ed è alla fine anch'esso *trascinato nella migrazione*. (Questo avviene abbastanza sovente in alcuni ceppi, che sono allora detti Vhf = Very high frequency, cioè ad altissima frequenza.) Per lo più l'accoppiamento invece s'interrompe prima che tutto il genoma sia stato trasferito. Di regola i frammenti trasferiti sono il 10-20 % del genoma completo.

Non si conosce ancora il motivo di questa interruzione e neppure il modo d'integrazione nel genoma originario della cellula batterica ricettrice del frammento iniettato. Che si tratti di un crossing-over come negli organismi superiori? A tutt'oggi non lo sappiamo ancora.

È oscura anche la sorte di quella parte di genoma che, dopo lo scambio con il frammento iniettato, finisce col rimanere accanto al genoma modificato. Probabilmente non lo segue nella replicazione e si "perde". La figura di p. 133 riassume quanto è stato esposto sui tre diversi tipi di sessualità (di *Escherichia coli*).

D'altronde il fattore F può all'occasione distaccarsi dal genoma in cui si era inserito e passare nel citoplasma: la cellula diventa F^+ e quindi nuovamente "infettiva".

Trasduzione mediante il fattore sessuale

Proprio l'ultimo fenomeno citato, quello del fattore F che ritorna nel citoplasma, ricorda molto il comportamento di un profago quando abbandona il posto occupato nel geno-

ma batterico per moltiplicarsi liberamente nel citoplasma diventando così infettivo. Avevamo visto che il profago, in tale occasione, poteva di quando in quando asportare un frammento confinante del genoma batterico e trasportarlo, mediante trasduzione, in un'altra cellula. Le cose si svolgono nello stesso modo anche con il fattore F? Qualcosa di simile è stato effettivamente osservato. Nel passaggio dalla forma Hfr a quella F^+ ($Hfr \rightarrow F^+$), al fattore F può rimanere attaccato un frammento del genoma in cui risiedeva, frammento che asporta, esattamente come farebbe un profago (ad esempio λ , vedi figura a p. 120). Dato l'alto grado d'"infettività" del fattore F, anche il frammento di genoma asportato perviene nel nuovo batterio infettato. È chiaro che il gene trasportato determina anche il sito in cui il fattore F sarà *eventualmente* incorporato nel nuovo genoma: ciò avverrà *accanto* all'allele omologo del gene in questione. Il processo si definisce "trasduzione mediante il fattore della sessualità", o più semplicemente "trasduzione sessuale".

Questa si presenta a tutta prima come un caso particolare, una curiosità senza grande importanza. Esaminando gli episomi ed il temuto RTF (*Resistance Transfer Factor*), ben presto ne sapremo qualcosa di più, o piuttosto di peggio. Alla fin fine queste disquisizioni, che possono sembrare teoriche ed astratte, all'occasione possono riferirsi a cause per noi di vita o di morte!

2.15 I batteri diventano resistenti per contagio

Ospitalismo e RTF

Dal punto di vista medico è già abbastanza grave che i batteri possano diventare resistenti per mezzo di mutazioni e prendere così, favoriti dalla selezione, rapido sopravvento in una popolazione. Tuttavia le mutazioni sono rare, quelle spontanee a due fattori lo sono ancora di più, quelle a tre

I batteri diventano resistenti per contagio

Hfr x F⁻



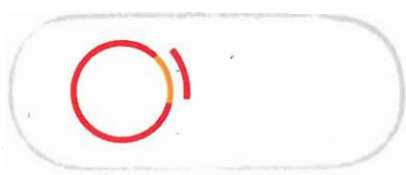
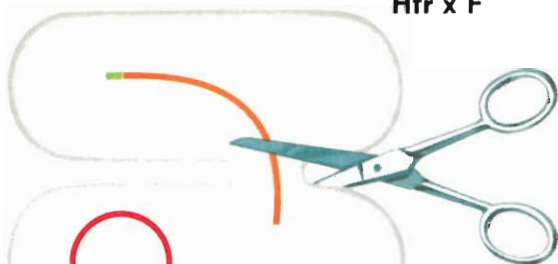
1 F⁻



2 F⁺



3 Hfr



1. (a sinistra in alto) - F⁻: manca il fattore F. 2. (a sinistra al centro) - F⁺: il fattore F è presente, e precisamente non nel genoma, ma libero nella cellula in cui si moltiplica per suo conto, indipendentemente dal genoma. Uno o più fattori possono essere trasmessi a cellule F⁻, che così diventano F⁺. In questo caso frammenti di genoma non sono trasferiti. 3. (a sinistra in basso) - Hfr: il fattore F è incorporato nel genoma. Così scompaiono i fattori F plasmatici, che non possono più essere trasmessi a cellule F⁻. Manca una diffusione "epidemica" del fattore F.
(a destra) - Incrocio Hfr x F⁻: il genoma circolare viene spezzato ed "iniettato" in una cellula F⁻. Le cellule Hfr, e soltanto queste, trasferiscono frammenti di genoma.
Di quando in quando il fattore F può liberarsi dal genoma e passare nel plasma: la cellula diventa allora F⁺, quindi nuovamente anche infettiva.

fattori vanno considerate assolutamente improbabili. Se un batterio, mediante mutazione, è diventato resistente ai sulfamidici, si può combattere insieme ai suoi discendenti, ad esempio, con streptomina, e se subentra una successiva mutazione che lo rende resistente anche alla streptomina, si può

usare cloramfenicolo = cloromicetina, ecc. Ma i batteri hanno scoperto un mezzo mille volte più pernicioso, il fattore R, la cui presenza rende la cellula batterica *contemporaneamente* resistente ai sulfamidici e agli antibiotici streptomina, cloramfenicolo, tetraciclina. Ma c'è di peggio.

- Questo fattore si trasmette durante la coniugazione e si diffonde di colpo in tutta la popolazione, molto più in fretta che con la normale riproduzione batterica.
- Una nuova cellula infettata è per lo più particolarmente attiva riguardo alla coniugazione.
- Il fattore non è specifico, e può essere trasmesso a qualsiasi specie nell'ambito delle enterobatteriacee.

Ma quante specie appartengono al gruppo delle enterobatteriacee!

1. Anzitutto gl'innocui colibatteri (*Escherichia coli*), talvolta persino necessari alla vita dell'uomo.

2. Seguono i gruppi dei *Proteus* e degli *Pseudomonas*. Vi appartengono specie anch'esse innocue se rimangono nell'intestino; ma guai se penetrano nelle vie urinarie! Ne derivano infiammazioni ribelli della vescica e dei reni.

3. Il gruppo dei *Salmonella*, noto come agente patogeno del tifo e del paratifo.

4. Il gruppo degli *Shigella*, agenti della dissenteria batterica, malattia che si manifestò nel 1957 in Giappone e portò alla scoperta del fattore R.

5. Il gruppo dei *Vibrio*, il più pericoloso dei quali è il *Vibrio comma* (= *cholerae*), agente del colera.

È sufficiente che una sola volta un innocuo colibatterio acquisisca in qualche modo il fattore R, perché questo si diffonda istantaneamente a tutte le enterobatteriacee. Questo non succede soltanto nella "sede" naturale dei batteri, l'intestino, ma anche esternamente, ad esempio negli alimenti, nel lavaggio delle stoviglie, nell'uso tanto frequente di un asciugamano in comune. Gli ospedali ne sono i più gravemente colpiti. Ed il termine tecnico "ospitalismo" sembra veramente mansueto in confronto alle conseguenze catastrofiche che possono nascere; è meglio non pensare che cosa possa capitare ad ammalati di tifo o di colera, qualora vengano ricoverati in ospedali infetti, e gli agenti patogeni del loro

male diventino immuni contro gli ormai provati antibiotici.

Per ora siamo impotenti contro questo genere di epidemie. Ma almeno sappiamo di che cosa si tratta, e questa è la premessa per lo studio di efficaci contromisure.

Il fattore R è trasportato e trasmesso dall'RTF, il Resistance Transfer Factor, che si comporta esattamente come un fago temperato e come il fattore F della sessualità. Per tutti e tre (e per almeno altri due fattori) s'è coniato il termine di *episomi*.

2.16 Geni con fissa dimora e geni vagabondi

Gli episomi, nuovo tipo di unità genetica

L'episoma può essere definito un'entità genetica indipendente, che può comparire alternativamente sotto due forme:

o in aggiunta al genoma, libero nel citoplasma in cui può moltiplicarsi con estrema rapidità, superiore a quella dello stesso genoma; in questo caso è "infettivo" e si presenta come fago litico, come F⁺ oppure RTF; la diffusione dell'infezione avviene in modo del tutto indipendente dalla trasmissione del genoma;

oppure attaccato e sottomesso al genoma della cellula; sotto questa forma l'episoma si moltiplica ed è trasmesso unicamente insieme al genoma batterico; si presenta allora come profago, come Hfr o come RTF (per quest'ultimo non si è ancora stabilita una sigla che lo distingua dall'RTF della forma precedente).

È importante notare che le due condizioni in cui può comparire un episoma si escludono a vicenda: se è annesso od incorporato nel genoma, dal citoplasma scompare la causa d'infezione. D'altra parte il profago (o l'Hfr o l'RTF) può essere "indotto" mediante raggi ultravioletti o coloranti acridinici; in tal caso esso abbandona il genoma e passa nel citoplasma, dove inizia la sua rapida moltiplicazione.

È chiaro che il concetto di episoma è estremamente importante per la medicina, ma che racchiude conseguenze di grande portata anche per la genetica. Se esistono geni che possono "vagabondare", che passano dal genoma al citoplasma e viceversa, mutando la propria attività, anche il concetto di gene va riveduto. Il gene non può più essere considerato l'unità di mutazione, di ricombinazione e di funzione, e neppure deve essere ritenuto vincolato al genoma (o cromosoma che dir si voglia). Negli ambienti scientifici non si è ancora concordata questa definizione, e per buone ragioni. Bisognerebbe infatti sapere almeno se il "cambiamento di posto" degli episomi è casuale o regolato da unità funzionali (da "geni regolatori"? vedi a p. 206).

Per ora lasciamo la questione in sospeso, e torniamo allo scopo di questo capitolo, che è la risposta alla già formulata domanda: con quali procedimenti l'informazione

genetica degli individui genitori è trasmessa agli individui delle generazioni discendenti? Abbiamo esposto questi procedimenti e visto che i meccanismi sono numerosi. In particolare i batteri si distinguono per una sorprendente inventiva: manifestano la trasduzione, la trasformazione, la coniugazione, la trasduzione sessuale, eccetera. Non sono riusciti, soltanto, ad attuare un vero sistema meiotico. Tuttavia i loro sistemi parasessuali permettono una moltiplicazione molto efficiente ed un adattamento *ereditario* particolarmente rapido a nuove condizioni di vita, poiché altrimenti sarebbero già estinti da lungo tempo.

Alla seconda domanda che ci eravamo posti con l'altra — cioè come l'informazione genetica trasmessa sia utilizzata per la produzione delle caratteristiche definitive degli esseri — risponderemo dopo aver approfondito gli aspetti della morfologia sottile e della "struttura infinitesimale" della cellula.

¹ Questa proposizione, oggi assiomatica, è stata la molla che ha fatto scattare nelle menti di Francis Crick e James Watson il meccanismo logico che li ha portati a scoprire nel 1953 la struttura del DNA, la più importante delle proteine. Essi infatti, affascinati dalla recente scoperta dell'elica — da parte di Pauling (vedi nota a p. 65) e coadiuvati dalle ricerche mediante il metodo della diffrazione ai raggi X effettuate da Maurice Wilkins (che per ciò condivise con loro il premio Nobel per la fisiologia e la medicina nel 1962) iniziarono nel 1951 a interessarsi alla struttura elicoidale del DNA. A quel tempo quasi tutti i genetisti si dedicavano a studi strettamente "biologici" sul comportamento dei cromosomi e dei geni, quasi non volessero credere che questi sono costituiti da DNA o quasi considerassero ciò un fatto strettamente chimico, senza implicazioni funzionali. Crick e Watson, non ferrati come Pauling nella struttura degli ioni, incontrarono non poche difficoltà nell'elaborazione del loro modello molecolare, tanto più che i dati raccolti da Wilkins facevano presumere che il DNA fosse composto di più di una catena di polipeptidi, ossia che fosse formato da più di un'elica.

Dopo un'errata rappresentazione spaziale consistente in una struttura a 3 eliche, essi giunsero infine al modello delle due catene intrecciate. [N.d.R.]

² Con la differenza che in questo caso migrano verso i poli cromosomi interi e non singoli cromatidi

come nella mitosi; ogni polo riceve uno dei due cromosomi omologhi. [N.d.T.]

³ Il termine "tetrad", qui adoperato, come usano talvolta i botanici, per indicare le quattro spore che si formano come prodotto finale della meiosi, può generare confusioni e non deve essere scambiato con la tetrad del genetista, che rappresenta invece il raggruppamento di quattro cromatidi — due per ogni cromosoma — durante la fase di accoppiamento (zigotene) dei due cromosomi omologhi nella meiosi. [N.d.T.]

⁴ Si tratta della replicazione del DNA appartenente a due cromosomi omologhi durante la loro duplicazione (formazione dei cromatidi). I filamenti singoli considerati (giallo e rosso nella figura), sui quali stanno formandosi i filamenti complementari che ad un tratto effettuano lo scambio di matrice descritto, sono uno di origine materna, l'altro paterna. [N.d.T.]

⁵ È detto minimo un terreno di coltura che contenga solo le sostanze necessarie ed indispensabili allo sviluppo della forma selvatica. Le sostanze che non possono essere sintetizzate dal batterio mutato e che devono essere aggiunte al terreno di coltura, costituendo un fabbisogno specifico per la sua crescita, sono dette «fattori di crescita». [N.d.T.]

⁶ Le cellule F+ si possono anche considerare maschili e quelle F- femminili. [N.d.T.]

3. Scrutiamo la cellula

Novità del microscopio elettronico ¹

3.01 A che servono gli elettroni nel microscopio?

Dopo essersi familiarizzato con le manifestazioni vitali fin qui descritte, il lettore certamente ha rilevato che alcuni processi determinanti non solo si svolgono *con la partecipazione* di molecole — in fin dei conti questa è una verità lapalissiana — ma anche *sotto la direzione* di molecole. E poiché sicuramente egli desidera estendere le sue cognizioni del fenomeno della vita, dovrà continuare ad approfondire lo studio di questo mondo molecolare insolito, tanto più che avrà avuto modo di convincersi di quanto giusta sia la via intrapresa. La logica severa del pensiero del genetista gli si impone. Tuttavia qualche lieve perplessità può sorgere in lui quando vede con quale sicurezza gli scienziati traggano le loro conclusioni e con quale indifferenza "saltino" da un'estremità all'altra di una catena di reazioni. Appena hanno osservato che una sospensione di qualche milione o miliardo di cellule batteriche è in grado all'improvviso di fermentare il galattosio, subito danno una spiegazione: « Qui può trattarsi solo dell'intervento di un fago che ha trasdotto tutta la regione gal! ».

In questi casi le deduzioni sono talmente arrischiate da far perdere il filo logico. Siccome il lettore preferisce cose concrete a concetti astratti, abbiamo cercato aiuto nei disegni, che però non ci fanno fare un gran passo avanti: essendo soltanto modelli, sono anche questi di per sé astratti. Saremmo tutti certamente soddisfatti se potessimo vedere, e se possibile fotografare o filmare queste molecole "dirigenti" ed i pro-

cessi biologici molecolari. Ci si potrebbe chiedere se il microscopio elettronico, questa moderna creazione elettrotecnica, sia idoneo a renderci visibile la dimensione molecolare.

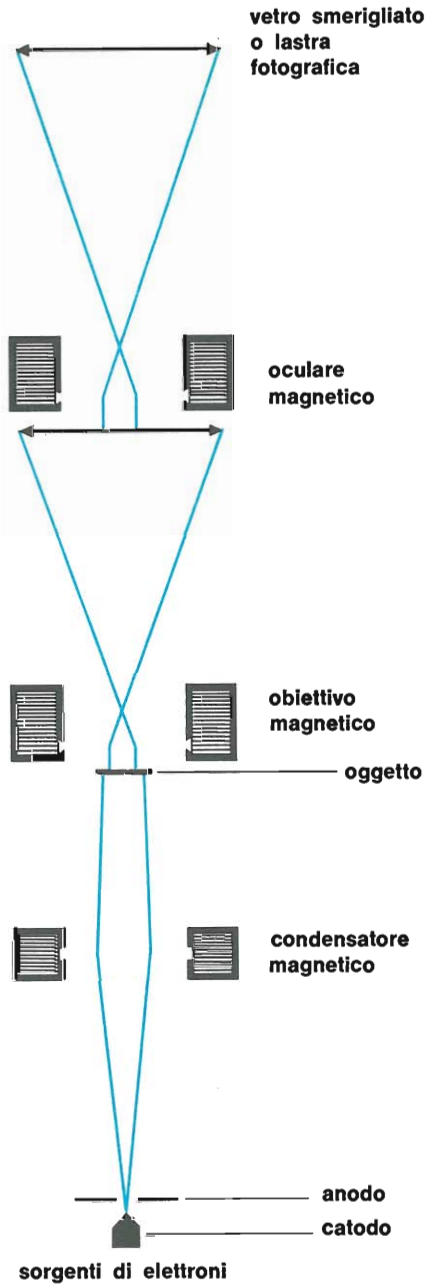
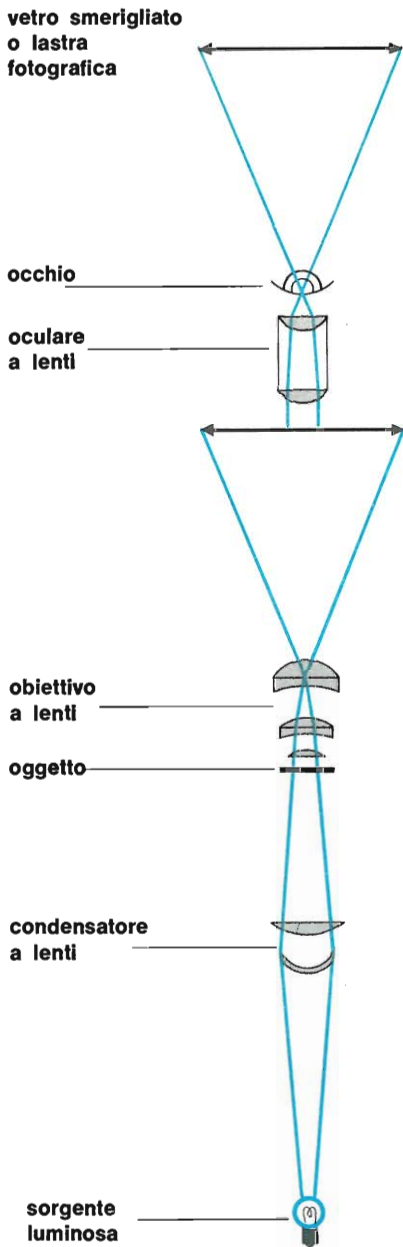
È senz'altro una domanda giustificata: nella figura a p. 114 abbiamo potuto osservare la doppia elica di DNA estratta dalla testa del fago T₂. È vero che si tratta di una (doppia) molecola gigante: ma, mentre è enormemente lunga, il diametro del suo filamento dovrebbe appena superare i 20 Å. Allora, perché non esistono anche fotografie di molecole di m-RNA, di eliche di proteine e di enzimi?

Per poter capire, e perciò giudicare, che cosa vediamo in realtà su queste fotografie, dobbiamo soffermarci, almeno brevemente, sul microscopio elettronico. Ci limiteremo all'indispensabile, a quanto può interessare un libro di biologia, non di ottica o di elettronica.

Possiamo riallacciarsi alla p. 100 dove avevamo messo a confronto il metodo genetico e le possibilità del microscopio elettronico per quanto riguarda il potere di risoluzione. Anche il nostro occhio possiede un suo potere di risoluzione come il microscopio, cioè ha la possibilità di distinguere due punti, separati fra di loro da uno spazio di circa 1/10 di millimetro (il valore esatto è di 0,073 mm), ad una distanza di 25 cm, che è quella della visione normale. L'angolo sotto cui sono visti questi due punti, detto "angolo di visione", ha in questo caso il valore limite di un primo (un angolo giro è suddiviso in 360 gradi, ciascun grado in 60 primi).

Il microscopio ottico ingrandisce la distan-

A che servono gli elettroni nel microscopio?



Confronto del percorso dei raggi nel microscopio ottico (sinistra) ed in quello elettronico (destra).

za tra i due punti osservati, e quindi in modo considerevole anche l'angolo di visione. L'effetto è prodotto da lenti di vetro, o meglio da sistemi di lenti. Uno di questi sistemi, detto "obiettivo" (in quanto è posto vicino all'oggetto preso in esame), riproduce un'immagine reale, chiamata anche immagine intermedia. Questa a sua volta è ingrandita, come fa una lente, dal secondo sistema, detto "oculare" (perché vi si porta l'occhio). Al corredo completo del microscopio appartiene infine anche un "condensatore" che concentra la luce, ed eventualmente una lastra fotografica in sostituzione dell'occhio. Ciò che ad occhio nudo appariva sotto un angolo di visione di un primo, ora si è molto esteso, e viene osservato sotto un angolo di visione maggiore, lasciando scorgere più particolari.

Ma l'ingrandimento con il microscopio ottico non può purtroppo essere aumentato indefinitamente, ed ha limiti ancora ben lontani dalle dimensioni molecolari. Infatti, per leggi fisiche che qui non è il caso di esporre, il potere risolutivo dipende dalla lunghezza d'onda della luce che è proiettata, attraverso l'oggetto da esaminare, nel microscopio, e si aggira su metà circa della lunghezza d'onda.

Per poterci esprimere con maggiore esattezza, ci riferiremo ancora una volta alle misure di lunghezza "proporzionate" al campo di osservazione del microscopio.

1 millimetro (mm) = 1.000 micron (μ)

1 micron (μ) = 1.000 millimicron (m μ).

Un millimetro contiene quindi un milione di millimicron. Un'unità ancora più piccola è l'Ångström, Å (in onore del fisico svedese Ångström).

1 Å = 1/10 m μ = 1/10.000 μ =

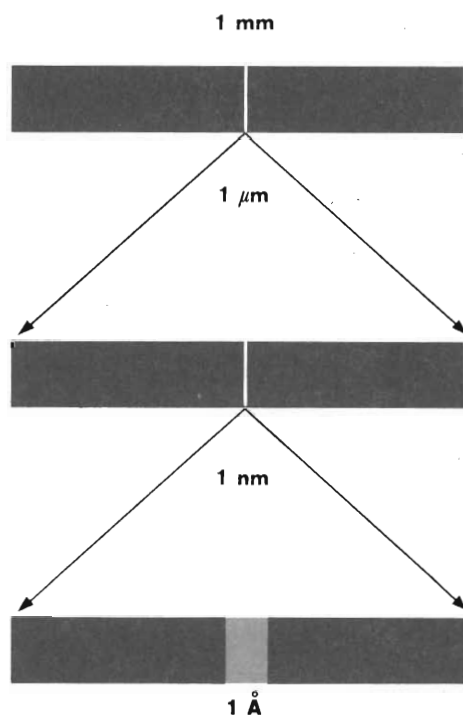
1/10.000.000 mm.

(Per fare un confronto, se dovessimo "stirare" un millimetro fino a fargli coprire la distanza dal polo all'equatore — sono circa 10.000 km = 10.000.000 m — un Å sarebbe allora lungo un metro. Questo confronto

dovrebbe servire a farci meditare sui rapporti esistenti tra queste grandezze ed a dimostrare che all'estremo le dimensioni più piccole diventano quasi inimmaginabili.)

La lunghezza d'onda della luce varia leggermente con il colore della luce; in media è di 0,5 μ = 500 m μ , e perciò il potere di risoluzione è situato intorno a 0,2 μ = 200 m μ . Se lo confrontiamo con quello dell'occhio umano, si è fatto un notevole progresso: da 0,1 mm = 100 μ a 0,2 μ !

D'altra parte, la distanza fra due atomi nella molecola è di circa 1 Å; una molecola di glucosio ha un diametro di circa 5 Å = 0,5



Ammettiamo che la barra nera superiore rappresenti 1 mm: 1/1.000 di questa viene ingrandito di 1.000 volte, ottenendo la barra nera centrale che corrisponde a 1 μ . 1/1.000 di questa viene nuovamente ingrandito di 1.000 volte e si ottiene la barra nera inferiore pari a 1 m μ . La decima parte di questa è 1 Å (banda grigia).

m μ e costituisce soltanto 1/400 del potere di risoluzione del microscopio ottico, che, come si vede, è perciò fuori combattimento. Il microscopio elettronico ci permette invece di scendere in simili particolari?

Nel microscopio elettronico si sfruttano:

a) la proprietà delle "particelle elementari", ad esempio degli elettroni, particelle a carica negativa, di poter essere considerate e trattate, qualora vengano sottoposte a velocità molto alte, alla stregua di onde elettriche, come se fossero raggi luminosi;

b) il rapporto esistente tra velocità e lunghezza d'onda: quanto maggiore è la velocità degli elettroni, tanto inferiore è la lunghezza d'onda del raggio elettronico (in base all'equazione di Louis de Broglie del 1924).

Così, accelerando di molto gli elettroni, aumentiamo anche il potere di risoluzione. Tecnicamente è oggi senz'altro possibile accelerare moltissimo gli elettroni provenienti da una sorgente di raggi elettronici; con 40.000, e fino a 100.000 Volt, si raggiungono velocità di 200.000 km al secondo. Mediante l'equazione di de Broglie, che tiene anche presenti altri fattori, come ad esempio la massa delle particelle, si riesce a calcolare una lunghezza d'onda di circa 0,05 Å, cioè 1/20 della distanza media tra gli atomi!

Se ora potessimo trattare i fasci di elettroni esattamente come i raggi luminosi nel microscopio ottico, cioè concentrarli con lenti, eccetera, il microscopio elettronico offrirebbe un potere di risoluzione di 0,025 Å (mezza lunghezza d'onda!).

Evidentemente tutto ciò non si può attuare nel microscopio ottico propriamente detto. Gli elettroni hanno una massa minima, e nonostante l'alta velocità verrebbero assorbiti, rimarrebbero "impigliati", nei sistemi di lenti dell'obiettivo e dell'oculare. Già soltanto attraversando l'aria, come i fasci luminosi nel microscopio ottico, gli elettroni non farebbero molta strada; se urtano molecole di idrogeno, di azoto o di anidride carbonica subiscono un rallentamento, o almeno sono

deviati dal loro percorso e dispersi. Di conseguenza con aria e lenti non si ottiene nulla. Da quanto precede emerge una condizione che sicuramente comporta inconvenienti per oggetti di natura biologica: all'interno del microscopio elettronico dev'essere il vuoto d'aria. Per le lenti esistono, fortunatamente, dei dispositivi che le sostituiscono. La direzione di un fascio di elettroni può essere mutata, secondo le necessità,

a) mediante campi elettrici (campi ad alta tensione);

b) mediante campi magnetici.

La loro azione è talmente simile a quella delle lenti di vetro, che si parla addirittura di lenti elettriche oppure magnetiche. Date le loro proprietà, si può costruire un microscopio elettronico esattamente secondo i principi di un microscopio ottico, con la medesima successione di lenti: condensatore, obiettivo, oculare (proiettore), lastra fotografica. Di nuovo c'è l'*oculare proiettore*, la cui funzione però corrisponde esattamente a quella dell'oculare del microscopio ottico: proiettare gli elettroni su di una lastra fotografica o su di uno schermo fluorescente, perché l'occhio umano non può percepire direttamente raggi costituiti da elettroni. Lo schermo fluorescente, come negli apparecchi a raggi Röntgen, è composto di sostanze che diventano luminose tutte le volte che sono colpite da elettroni.

Nel microscopio ottico si osserva dall'alto, perché l'occhio umano guarda meglio verso il basso. Ma occorrerebbe una scala per chi osserva con il microscopio elettronico, che è molto grande; quindi lo si è girato al contrario, in modo da permettere all'occhio di guardare uno schermo fluorescente posto in basso.

Con ciò abbiamo rapidamente descritto, lasciando ogni particolarità fisica, il principio del funzionamento del microscopio elettronico; ma purtroppo dobbiamo moderare le nostre grandi aspettative sul suo potere di risoluzione. Le lenti elettriche e magne-

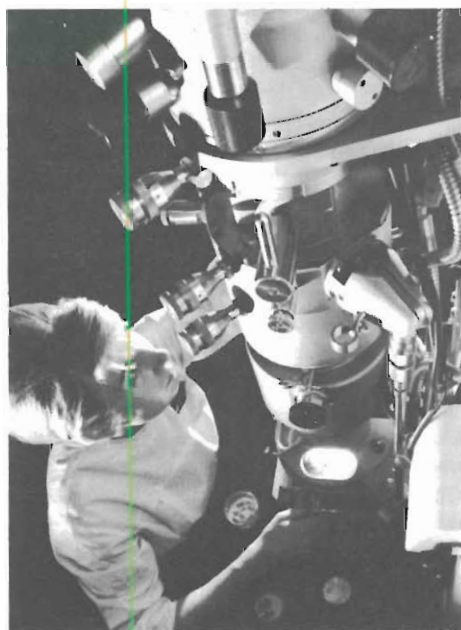


Microscopio elettronico elettromagnetico. Il suo potere di risoluzione si aggira sui 10-12 Å.

tiche non possiedono una grande precisione, non riescono a disciplinare i fasci di elettroni in modo così esatto come le lenti di vetro fanno con i fasci luminosi. Pertanto l'angolo di visione, e con esso il potere di risoluzione, diminuiscono nuovamente. Quest'ultimo è per lo più, attualmente, di 6-10 Å. Gli apparecchi più moderni, forniti di lenti magnetiche, raggiungono nel caso migliore i 3 Å; siamo quindi ancora ben lontani dal "valore teorico" di 0,025 Å. Se tuttavia confrontiamo questo valore con quello di $0,2 \mu = 200 \text{ m}\mu = 2.000 \text{ Å}$ del microscopio ottico, vediamo che il microscopio elettronico ingrandisce circa 700 volte di più. Di una molecola di zucchero, essendo lunga circa 5 Å, dovremmo poter ottenere l'immagine sullo schermo fluorescente del microscopio elettronico.

Ma in realtà che cosa vediamo sullo schermo? Null'altro che i punti di arrivo degli elettroni. Ciò significa che ai punti luminosi dello schermo corrispondono altrettanti punti del preparato, che hanno lasciato passare un elettrone senza assorbirlo e senza deviarlo (disperderlo) dal suo percorso iniziale. Logicamente un punto scuro rappresenta un punto del preparato che non si lascia attraversare dagli elettroni, in quanto li assorbe o li disperde. Ma assorbimento e dispersione dipendono dalla densità del preparato che si osserva, o più esattamente dalla "densità della massa" (= spessore $\times$ densità). Ricordiamo che:

- le diversità di luminosità sullo schermo forniscono indicazioni su differenze di densità nel preparato, e nient'altro. Non possiamo valerci di effetti di rifrazione,



Nel microscopio elettronico la sorgente dei raggi è in alto, lo schermo in basso. La direzione del fascio di elettroni è perciò inversa a quella del fascio luminoso nel microscopio ottico.

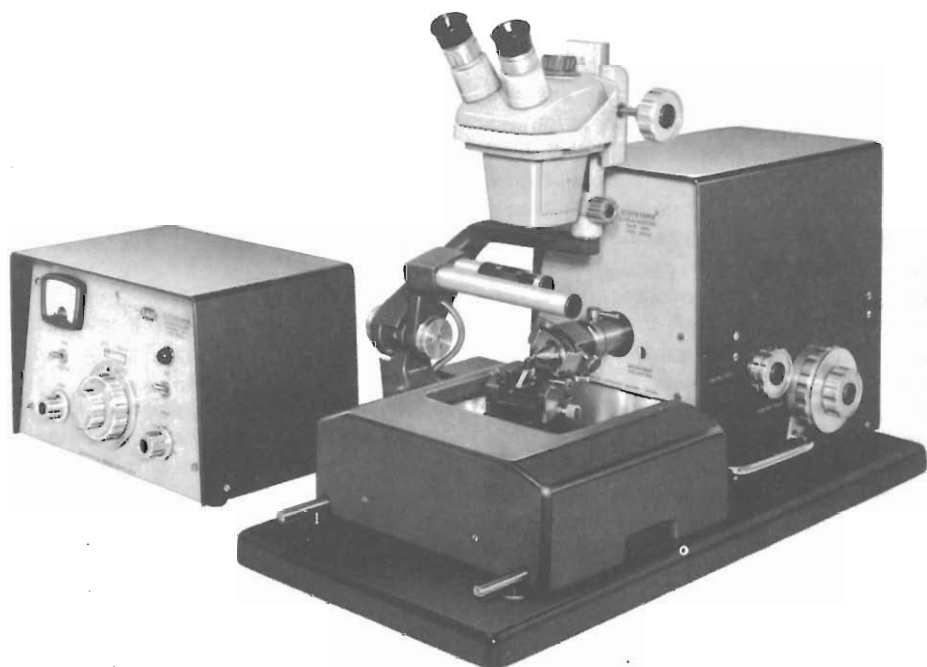
di diffrazione, o di differenze di colore, come nel microscopio ottico;

- quando un preparato è uniformemente denso, si osserva solo una luminosità uniforme, non vi è nulla che possa esser posto in evidenza;
- infine, se il preparato è troppo denso, non si vede più nulla.

Tutto ciò procura spiacevoli difficoltà. Anche solo le cellule più piccole, ad esempio quelle batteriche, possiedono un diametro superiore ad $1\ \mu = 1.000\ m\mu = 10.000\ \text{\AA}$, il che è eccessivo! Se poniamo una cellula batterica nel microscopio elettronico, di regola non lascia passare nessun elettrone e compare sullo schermo come una macchia nera impenetrabile. Se vogliamo conoscere certi particolari della cellula, dobbiamo sezionarla in fettine sottili, anzi sottilissime.

L'esperienza ha mostrato che il loro spessore deve essere al di sotto dei $100\ m\mu$, meglio se compreso tra 30 e $50\ m\mu = 300$ e $500\ \text{\AA}$. Perciò dobbiamo affettare il batterio in non meno di 20 fettine, ed un foglio di carta in più di 1.000! Questo problema è stato tecnicamente risolto negli ultimi vent'anni con la costruzione di "ultramicrotomi" ad alta precisione.

Evidentemente un batterio, una cellula di lievito, un frammento di tessuto animale o vegetale non possono essere direttamente affettati; il materiale dev'essere precedentemente incluso in una massa di sostanza sintetica, che sia prima fluida e poi s'indurisce, come ad esempio il plexiglas (questa massa non deve avere una struttura propria che possa risaltare al microscopio elettronico, deve essere assolutamente ed uni-

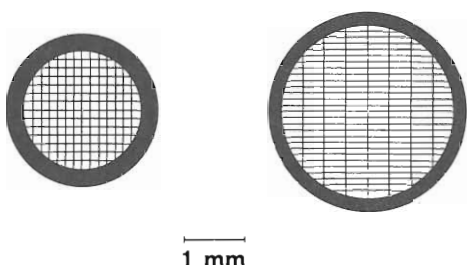


Ultramicrotomo per ottenere fettine particolarmente sottili. Sulla destra, l'apparecchio per il taglio, con un microscopio per il controllo visivo; sulla sinistra, l'apparecchio elettronico di regolazione.

formemente trasparente). Soltanto questo blocchetto solido può essere tagliato nel microtomo con lame di vetro o di diamante. E con questo perdiamo le ultime speranze di potere, un giorno non molto lontano, esaminare cellule viventi, ed eventualmente filmare processi vitali. Infatti, prima di poter essere fotografate, le cellule sono uccise, incluse in resina sintetica, affettate, e per di più messe sotto vuoto. Inoltre, una sezione dello spessore di $500 \text{ \AA}$ è talmente delicata, che al minimo urto verrebbe danneggiata. Per poterla maneggiare e collocare nel microscopio elettronico, si deve posarla su di un supporto semisolido, un portaoggetti, che è un foglio di plastica dello spessore di $100\text{-}300 \text{ \AA}$, uniformemente trasparente, proprio come il materiale usato per l'inclusione. Questo foglio sottile è sostenuto da una reticella metallica d'appoggio. Evidentemente potremo osservare l'oggetto soltanto attraverso le maglie della rete, non essendo i suoi fili trasparenti.

Ed ora che cosa succede se osserviamo una molecola di zucchero? Ciò che appariva teoricamente possibile, si rivela in pratica inattuabile. Una simile molecola di $5 \text{ \AA}$ di diametro, compresa in una sezione che è, con i suoi $500 \text{ \AA}$, cento volte più spessa, circondata da altre innumerevoli molecole, uguali e differenti, non potrà mai essere posta in evidenza (almeno senza gli accorgimenti di cui tratteremo in seguito). Dovrebbe possedere una densità che si differenzi in modo enorme da quella di tutte le altre molecole circostanti, cosa assolutamente inattuabile. La maggior parte delle sostanze organiche ha praticamente la medesima densità; anche la differenza di densità con l'acqua o con la massa d'inclusione è troppo piccola; quindi solo in casi rarissimi si produce un contrasto sufficiente per il microscopio elettronico.

Naturalmente la densità di una singola molecola è maggiore rispetto al vuoto che rispetto all'acqua. Si potrebbe perciò provare a lasciare evaporare qualche goccia di una



Reticelle di sostegno con fili metallici sottilissimi prevengono la frattura delle pellicole di supporto e delle sezioni ultrasottili.

soluzione molto diluita di zucchero su una pellicola sintetica di sostegno, ed ottenere in tal modo singole molecole di zucchero sparse su di una superficie.

Ma anche così non si ottengono risultati positivi. La molecola isolata si trova su di uno strato di materia sintetica, di uno spessore dai 100 ai $300 \text{ \AA}$, che, per quanto puro ed amorfo, costituisce sempre un fondo irregolare (vedi la figura a p. 47), sul quale la molecola di zucchero scompare. (Ma anche se potessimo rintracciarla, che cosa avremmo scoperto di utile per la biologia molecolare? Noi desideravamo sapere ciò che si può vedere nella cellula!)

3.02 Dentro la cellula con il microscopio elettronico

Quali particolari della cellula ci mostrano le immagini del microscopio elettronico? Dicono qualcosa di nuovo o confermano semplicemente quanto già sapevamo dal microscopio ottico?

I libri di testo iniziano sempre con l'immagine della cellula che ci è fornita dal microscopio ottico. Questo modo di procedere è senz'altro giusto per lo studente, il quale, data l'enorme differenza tra i poteri risolutivi dei due microscopi, si perderebbe probabilmente di fronte ai particolari forniti

dal microscopio elettronico, e non riuscirebbe ad avere una veduta d'insieme. Solo con il confronto continuo e ripetuto delle immagini ottenute con entrambi i sistemi d'osservazione si possono interpretare in modo esatto i particolari resi evidenti dal microscopio elettronico (compito assai difficile, perché il microscopio elettronico, a differenza di quello ottico, mette in risalto solo diversità di densità).

Così i capitoli sulla morfologia cellulare iniziano di regola con le parole: «La cellula tipica è costituita da...», e segue l'elenco dei numerosi costituenti cellulari. Botanici e zoologi parlano ciascuno di una cellula "tipicamente" vegetale o animale, ma in realtà non esiste probabilmente la cellula pura e semplice: tale espressione rappresenta poco più di un dato statistico medio, di un'astrazione. Le cellule — che sono le più piccole unità viventi — assumono aspetti molto diversi, secondo la provenienza, la funzione, le condizioni, l'età, ecc., e ne esistono migliaia di tipi.

Per gli scienziati sovente le differenze sono più importanti delle somiglianze; ne traggono conclusioni sullo stadio di sviluppo, sul grado di differenziazione, sulle attitudini funzionali e su tante altre cose ancora. In questa ricerca spesso hanno difficoltà a non perdere di vista quanto c'è di comune sotto le molteplici apparenze; ma questo alla fine è il loro compito.

Arrivato a questo punto, il lettore certamente desidererà dare anche solo uno sguardo dentro alla cellula col microscopio elettronico, per vedere che cosa contenga, che cosa di nuovo vi sia stato scoperto, e per capire quale significato abbiano le diverse parti cellulari nella comprensione dei processi vitali.

Questo compito sarà certamente facilitato se, con l'aiuto di fotografie particolarmente ben riuscite, esamineremo l'una dopo l'altra le strutture che si ripetono in quasi tutte le cellule. Soltanto in seguito proveremo a

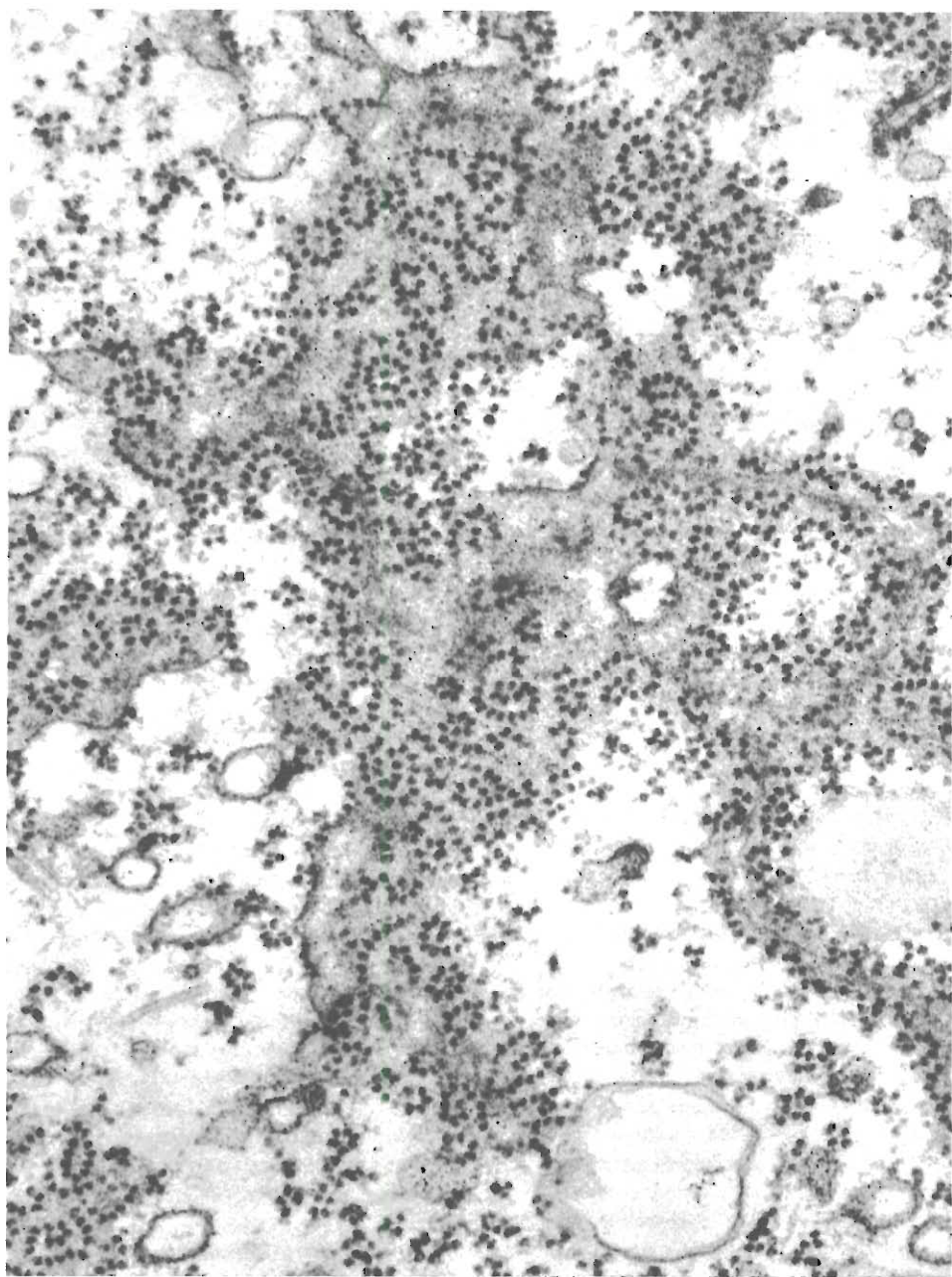
ricomporre l'immagine di una cellula completa, partendo dalle sue strutture elementari. (E questo, in fondo, è anche la meta della scienza: la scomposizione della cellula nelle sue minime parti costituenti fino alle molecole, cioè l'analisi, non può essere fine a se stessa. Ad un certo punto occorre che da questi particolari riemerge la cellula nel suo complesso!)

3.03 I ribosomi, fabbriche di proteine

È più semplice iniziare con i ribosomi, che già conosciamo fin dal primo capitolo quali centri di sintesi proteica. Abbiamo visto che si possono estrarre da un omogeneizzato cellulare con ultracentrifugazione in condizioni di tale purezza, da offrire una nitida immagine al microscopio elettronico, quando siano stati distesi sulla pellicola di sostegno (vedi figura a p. 47). Ma possiamo osservarli anche nella cellula?

La figura a p. 144 mostra un piccolo frammento di giovane cellula epidermica della radice di un germoglio di ravanello di quattro giorni. Si nota uno sfondo più o meno grigio, cosparso di bollicine e di un gran numero di piccoli corpiccioli scuri (che disperdono gli elettroni), *in situ*, dunque sul posto. Oggi abbiamo la certezza assoluta che questi corpiccioli sono realmente ribosomi, gli stessi con i quali in provetta, cioè *in vitro*, si ottiene la sintesi proteica. (Sono occorsi tuttavia molti anni ed un'intensa ricerca comparativa con i mezzi più disparati per poter dimostrare che le particelle individuate *in situ* sono identiche a quelle *in vitro*; qui dobbiamo rimetterci alle affermazioni concordanti dei biochimici e dei morfologi che usano il microscopio elettronico.)

I ribosomi hanno dimensioni assai costanti. Sono quasi sferici, hanno un diametro di circa $15 \mu = 150 \text{ \AA}$, ma non sono distribuiti molto regolarmente. Accanto a zone



Numerosi ribosomi, in parte raggruppati a elica in polisomi, in una cellula epidermica di radice di ravanello.

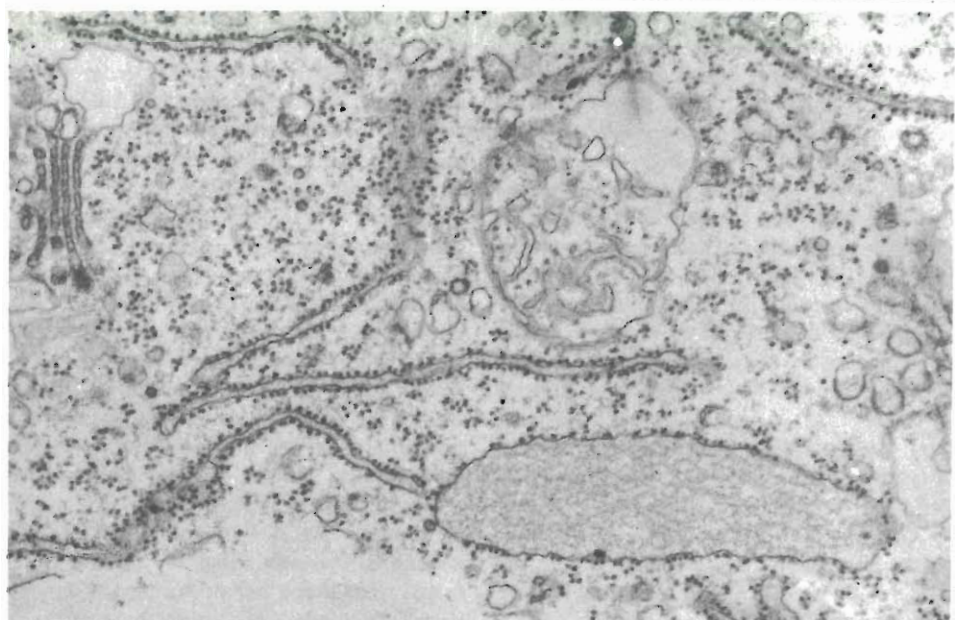
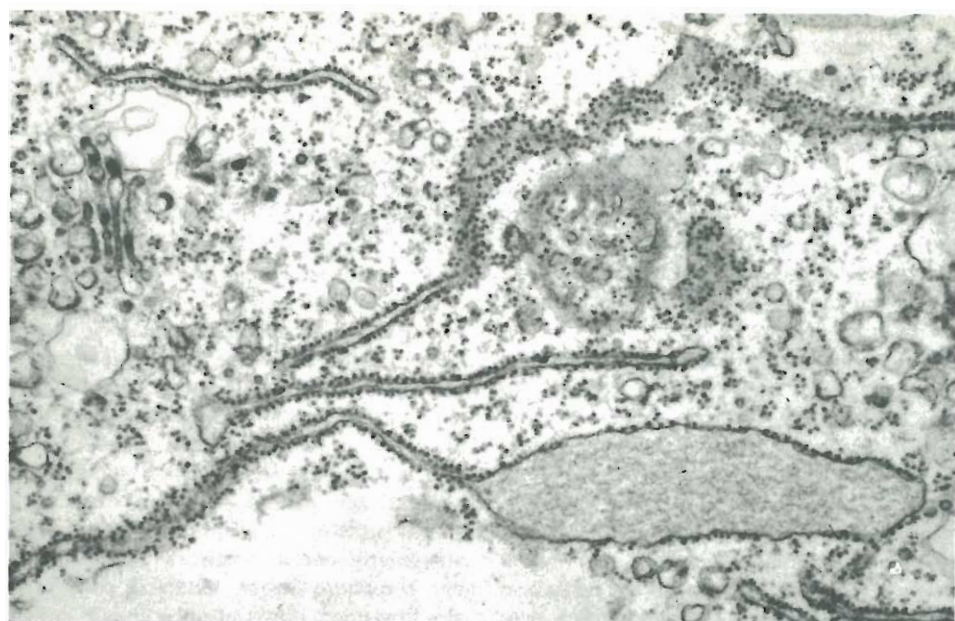
quasi prive di ribosomi, ne compaiono altre in cui i ribosomi si accumulano. Inoltre sono posti in fila, strettamente addossati l'uno all'altro, in catene che possono anche avvolgersi in elica: sono i poliribosomi, o "polisomi". Probabilmente sono trattenuti insieme da una molecola di m-RNA (vedi p. 54). Ma c'è di più: a maggiore ingrandimento, si direbbe che in alcuni punti essi siano costituiti da sotto-unità; si tratta forse delle unità da 30-S, 50-S e 70-S che già conosciamo.

In realtà questa distribuzione irregolare ed apparentemente casuale dei ribosomi dovrebbe stupirci. È vero che sovente molti di essi sono raggruppati in polisomi, ma questi a loro volta sono disposti nel substrato in modo troppo disordinato. La sostanza fondamentale della cellula, il citoplasma, non sarebbe dunque altro che una massa informe di densità variabile, in cui siano semplicemente sparsi i ribosomi? Ciò rivedrebbe il concetto della cellula considerata quale sistema altamente organizzato. Ora però conviene aggiungere che, nella sezione illustrata alla figura a p. 144, il taglio è stato effettuato quasi parallelamente ad una parete laterale della cellula epidermica, ed in particolare immediatamente a ridosso di questa parete. Se invece sezioniamo una seconda cellula in modo che la direzione del taglio sia perpendicolare a quella precedente, si ottiene un'immagine ben diversa (vedi figura a p. 146). Anche qui si notano un fondo irregolarmente granuloso e piccole vescicole. *Nuovi* invece sono numerosi e lunghi "canalicoli", che in parte terminano a fondo cieco nella massa fondamentale, in parte "escono dalla figura", ed in certi punti sembrano collegati tra di loro. Quest'ultimo particolare risulta in modo chiaro se si osservano successivamente le due microfotografie (a p. 146) che appresentano due sezioni contigue. Questi "canalicoli" sono apparentemente vuoti, cioè il loro contenuto è amorfo: lo si può riscontrare soprattutto dove si allargano (in

basso a destra). Le pareti dei "canalicoli", invece, offrono un contrasto netto e si presentano come membrane continue e scure per la diffusione degli elettroni.

Ritornando ai ribosomi, li ritroviamo, come nella figura precedente, sparsi senza regola sul fondo, per lo più come polisomi. Inoltre, e questo è un nuovo reperto, sono situati in gran numero e stipati uno accanto all'altro sulla superficie esterna dei canalicoli, mai invece dentro i "canalicoli" stessi. Per il momento dobbiamo accettare questo dato di fatto, anche se non sappiamo perché i ribosomi si dispongano di preferenza alla superficie dei "canalicoli". Non sappiamo neppure se esistano differenze tra ribosomi diversamente situati, e se quelli annessi alla membrana siano attivi nella sintesi proteica, in confronto a quelli sparsi liberamente nella sostanza fondamentale, che sarebbero invece inattivi. È però certo che troviamo i ribosomi nelle cellule in fase di sintesi proteica attiva, ad esempio nelle cellule giovani ed in quelle che producono anticorpi (vedi a p. 254), mentre in cellule vecchie ed ormai sviluppate i ribosomi sono scarsi o addirittura assenti.

La predilezione dei ribosomi per la superficie esterna dei "canalicoli" è tuttavia sorprendente, e ci induce ad esaminare più attentamente queste strutture. Finora abbiamo sempre usato il termine prudenzialmente tra virgolette per indicare il carattere provvisorio della denominazione. In realtà questi canalicoli solo di rado hanno una sezione circolare come quella di un tubicino. Il più delle volte anche la loro sezione trasversale appare allungata; tutto fa pensare a "vesciche" schiacciate e fortemente appiattite. (Si può anche dedurlo dall'osservazione delle due microfotografie, quella superiore e quella inferiore, della p. 146, in cui i canalicoli hanno la medesima posizione. Trattandosi di sezioni successive, il loro spessore complessivo corrisponde almeno a quello di due fettine, cioè a circa 600-1.000 Å, mentre il diametro apparente



Lo stesso tipo di cellula della figura precedente, ma questa volta sezionata in altra direzione. \ si notano ancora ribosomi in grande quantità, ed oltre ad essi numerose cisterne del reticolo endoplasmatico. I ribosomi sono situati preferibilmente all'esterno delle membrane. Le due sezioni vanno considerate insieme, perché una segue immediatamente l'altra.

che risulta nel piano di osservazione è soltanto di 200-300 Å.)

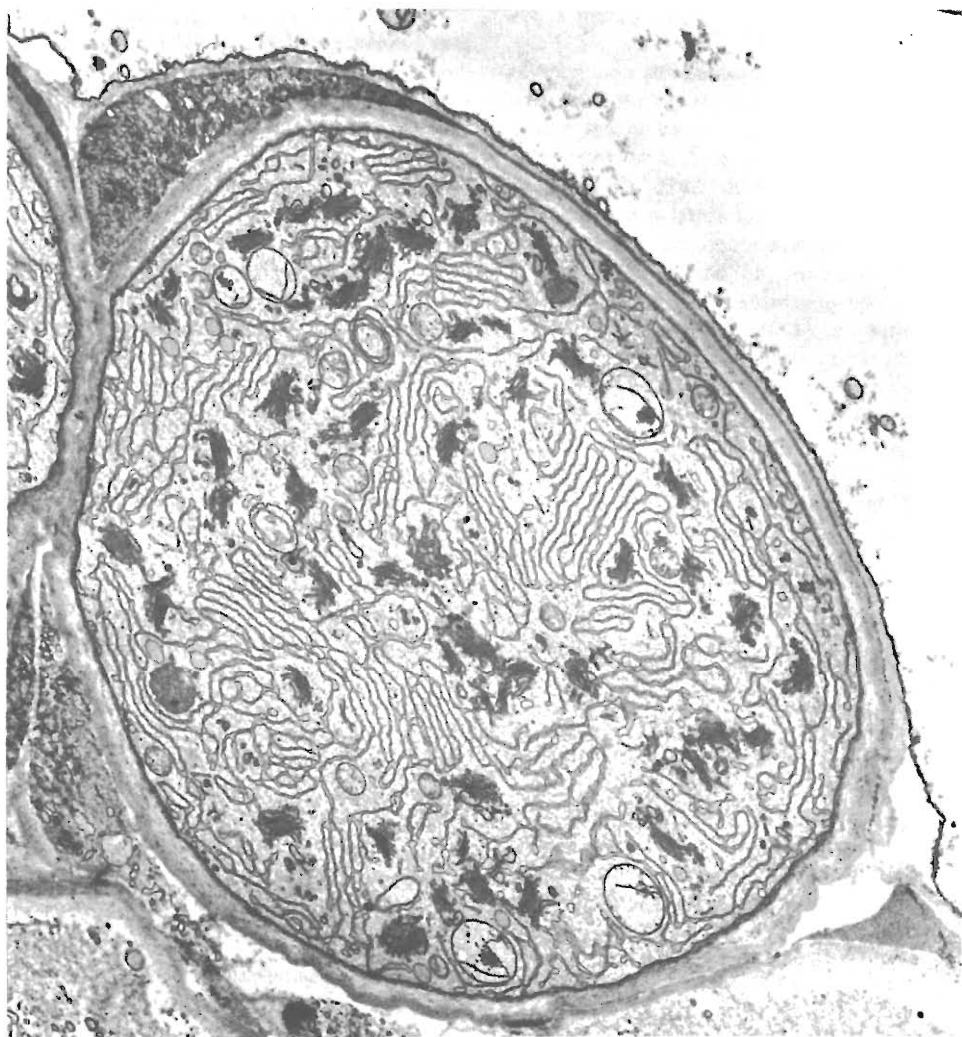
Queste cavità, che ovviamente non sono in realtà vuote, ma il cui contenuto non presenta particolari strutture, ed in cui non si notano mai ribosomi, si dicono "cisterne". Nella figura a p. 146 avevamo già visto che non sempre sono così sottili e che possono anche ampliarsi in modo considerevole.

Le cisterne sono collegate fra di loro, e nel loro complesso formano il "reticolo endoplasmatico", sistema reticolare di canali, cisterne, ecc., immerso nella sostanza plasmatica fondamentale. Nelle due figure precedenti queste connessioni non sono in principio evidenti, però appaiono subito ed in modo chiaro nelle seguenti. La figura a p. 148 riproduce una cellula di fogliolina di peste d'acqua contenente molte cisterne sparse, che in numerosi punti si continuano l'una nell'altra. Nella figura a p. 151 notiamo invece tre cellule addossate di pancreas, in cui le cisterne sono molto fitte ed orientate circa parallelamente ai limiti cellulari. Prima di parlare però di questa disposizione ordinata e singolare, ritorniamo brevemente ai ribosomi della figura a p. 144. Qui non vi è alcuna traccia di reticolo endoplasmatico (le vescicole sparse probabilmente non ne fanno parte, perché non sono circondate da ribosomi). Ma ciò non significa affatto che manchi del tutto; ricordiamo che il taglio attraverso la cellula è stato effettuato quasi parallelamente alla parete cellulare, e molto vicino a quest'ultima. Il raffronto con la figura a p. 146 ci dimostra che evidentemente nella figura a p. 144 è rappresentata una cisterna vista di piatto, e che stiamo osservandone dal di fuori la parete esterna con i ribosomi che vi aderiscono, quei ribosomi che in una sezione trasversale della cisterna guarniscono tutto attorno la sua parete. Dopo lo scetticismo dimostrato (p. 142) provocato dalla scarsità di differenze di densità tra le diverse sostanze che compongono la cellula, potrebbe sorprendere che i ribosomi spicchino così bene sullo sfondo ed

offrano un contrasto tanto netto. Sono proprio talmente più densi della sostanza circostante, ad esempio delle pareti, e del reticolo endoplasmatico su cui sono collocati? In realtà si è ricorsi in questo caso ad un espediente per rinforzare il contrasto. Abbiamo visto che proprio gli acidi nucleici, componenti essenziali dei ribosomi, hanno particolare affinità con certi sali di metalli pesanti, affinità in ogni caso molto superiore a quella delle proteine e delle sostanze grasse. Trattando una fettina con acetato di uranio o con citrato di piombo, queste sostanze si addensano in prevalenza sulle strutture contenenti acidi nucleici, ed in tal modo le "marcano". L'acetato di uranio è composto da uranio (o meglio da uranio + ossigeno) e da acido acetico, il citrato di piombo invece da piombo ed acido citrico. Ora l'uranio ha peso atomico di 238, il piombo di 207, ed i loro atomi sono rispettivamente 238 o 207 volte più pesanti dell'idrogeno, quindi anche molto più densi. Di conseguenza essi assorbono, oppure disperdono, gli elettroni molto più delle molecole d'acqua, di proteina o di acido nucleico non marcato. La marcatura rende perciò visibile al microscopio elettronico quelle strutture che si sono caricate di uranio o di piombo: sono più scure delle sostanze circostanti.

Talvolta si usa rinforzare il contrasto alla rovescia. È una tecnica molto pratica per fare risaltare quelle sostanze o quei componenti cellulari (oppure anche i batteriofagi) che per varie ragioni rifiutano i sali di metalli pesanti. Consiste nell'impregnare con sostanze contrastanti l'ambiente in cui è immerso il particolare che si desidera osservare, il quale comparirà chiaro su sfondo scuro, cioè proprio al contrario dei ribosomi dopo il trattamento con acetato di uranio.

Non ha quasi mai importanza che l'oggetto appaia chiaro su sfondo scuro o scuro su sfondo chiaro: con il microscopio elettronico



Molte cisterne, in parte parallele, sono collegate fra di loro formando una rete a larghe maglie: il reticolo endoplasmatico (ER). Microfotografia elettronica di una cellula di foglia di peste d'acqua (Le macchie scure sono dittiosomi, di cui verrà trattato a p. 166.)

ha solo importanza il contrasto, sia positivo sia negativo.

Gli americani in questo caso parlano, con poca esattezza, di *negative staining*, ossia di colorazione negativa. Per l'osservazione al microscopio ottico si caricano determi-

nate strutture con sostanze coloranti che le rendono meglio riconoscibili; in questo caso invece si possono marcare con metalli pesanti gli oggetti da osservare o, al contrario, impregnare l'ambiente, ma non si tratta di colore, perché sono rinforzati solo

i contrasti di bianco e nero. Il fago T₂ di p. 109 è stato reso visibile solo dalla tecnica della colorazione negativa.

3.04 Finalmente il reticolo endoplasmatico

Vie di trasporto nel citoplasma

Abbiamo visto due delle forme in cui può presentarsi: quella a disposizione irregolare nella cellula dei peli di radice, e quella invece molto ordinata, con cisterne parallele alle pareti cellulari, nelle cellule del pancreas. In entrambi i casi è la stessa formazione del reticolo endoplasmatico vero e proprio, di solito abbreviato in ER. Potendo questo assumere aspetti tanto diversi, ci possiamo chiedere se la sua forma sia specifica per una determinata cellula, cioè se nella cellula di pelo di radice sia sempre così irregolare ed in quella di pancreas sia sempre disposto in strati paralleli. È cioè possibile caratterizzare determinati tipi di cellule mediante una struttura inconfondibile del loro ER?

La risposta è negativa. La forma dell'ER che si osserva in una sezione non è mai costante e immutabile. Al contrario: quando una cellula giovane cresce, quando è nel pieno della sua attività, quando invecchia e regredisce nella sua efficienza, l'ER cambia aspetto. Inizialmente le cisterne presenti sono poche e distribuite irregolarmente, poi si moltiplicano occupando una parte notevole del corpo cellulare, disponendosi secondo un ordine sovente ben evidente. Durante la vecchiaia sembra invece che l'ER si smembri e che ogni parte rimasta perda la sua attività ed il collegamento con le altre.

E ancora: anche durante uno stadio ben preciso della vita della cellula, l'ER può assumere aspetti diversi. Eccone almeno un esempio. La figura a p. 151 mostra cellule di pancreas prive di nutrimento. Confron-

tiamola con quella a p. 152 che rappresenta invece le stesse cellule nutrite con abbondanza e per un'ora dopo il periodo d'inanizione (e prima della fissazione). La disposizione a strati paralleli si conserva, ma le cisterne, in precedenza distese, si sono ora incurvate formando cerchi concentrici, o meglio *sfere cave* concentriche (se consideriamo non solo una sezione, ma tutta una sequenza di fettine per ottenerne una rappresentazione tridimensionale). Queste sfere cave non sono sempre completamente chiuse, le cisterne sembrano in alcuni punti interrotte: le sfere dovrebbero quindi avere dei "fori".

Contrariamente a quanto ci aspetteremmo, queste sfere si dispongono solo di rado intorno al nucleo cellulare; molto più sovente nel centro vi si trova un mitocondrio (particella di cui parleremo più avanti), oppure un granulo o goccia di "secreto", cioè un accumulo di quelle sostanze — solide o liquide — che sono prodotte dalla cellula stessa e che sono poi espulse, ad esempio nel circolo sanguigno o nel sistema dei vasi linfatici (vedi figura a p. 253).

L'ER è perciò abbastanza "malleabile", e viene di continuo rifatto e riordinato, talvolta anche molto in fretta. Quindi l'immagine ottenuta al microscopio elettronico è sempre e soltanto un'istantanea, che coglie un attimo brevissimo di un processo continuo di mutamenti. Dobbiamo evitare di sopravvalutare l'aspetto assunto di volta in volta dall'ER, anche quando sembra regolare e "bello".

D'altronde sarebbe altrettanto inopportuno scartare l'ER come formazione "non attendibile" per il suo continuo mutare d'aspetto, e considerarlo un prodotto casuale o eventualmente artificiale formatosi durante la preparazione dell'oggetto per il microscopio elettronico. (Il problema degli "artefatti" con sezioni sottili verrà trattato fra breve.) Comparire troppo sovente, ed il collegamento delle cisterne in un "sistema di canali" è troppo strano perché si possa sostenere una

simile opinione. Proprio la disposizione delle sfere, incapsulate l'una nell'altra, nonostante la loro variabilità, fa pensare che la cellula non sia un semplice "otricello", in cui qualche milione di enzimi e di ribosomi vagano alla rinfusa. I suoi componenti dimostrano di associarsi in strutture organizzate; la cellula ha una sua architettura, e di continuo subisce meravigliose ed ancora inspiegabili trasformazioni.

Nell'ambito di questa architettura, all'ER spetta senza dubbio il compito di mantenere l'ordine. Come si è visto, le cisterne sono "otticamente vuote", non lasciano trasparire struttura alcuna, e non offrono contrasti sufficienti al microscopio elettronico. D'altronde, la faccia esterna delle superfici, ossia delle membrane dell'ER che delimitano questi spazi, è cosparsa di ribosomi; inoltre all'esterno delle cisterne troviamo i mitocondri, i plastidi, i ditirosomi (dei quali parleremo in seguito), e così anche il nucleo. In tal modo le membrane dell'ER separano una fase *extra-cisternale* (con i mitocondri ecc.) da una fase *intra-cisternale* ("vuota"): quest'ultima si estende a tutta la cellula secondo leggi ancora poco conosciute, ma certamente molto rigide, come quelle che governano l'insieme dell'architettura.

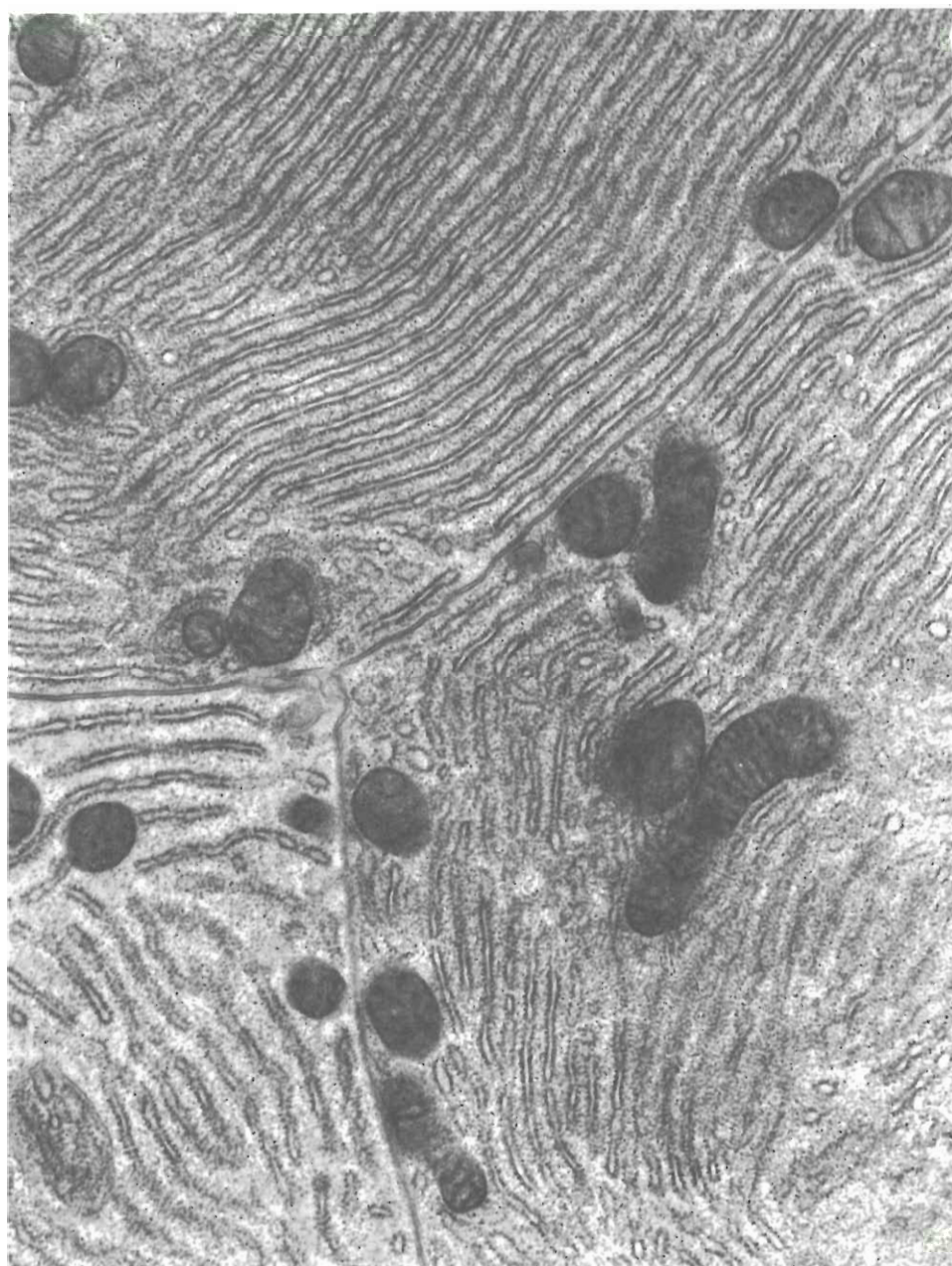
Con tutto ciò abbiamo detto ben poco sulla natura e sulle funzioni dell'ER. Siamo ancora nel campo delle supposizioni, perché è impresa laboriosa e sovente vana ricostruire un *processo* basandosi unicamente sull'osservazione limitata a determinati momenti. Chi pretenderebbe con una serie di fotografie di un'automobile in movimento di scoprirne il funzionamento? Occorrerebbe almeno effettuare sezioni del motore in tutte le direzioni per fotografarne i singoli organi, ma chi garantisce che la loro posizione, al momento in cui li si osserva, sia la stessa che avevano poco prima del sezionamento? (E qui ritroviamo il problema degli artefatti.)

Una delle interpretazioni è che le cisterne dell'ER abbiano *funzioni* di trasporto. Pro-

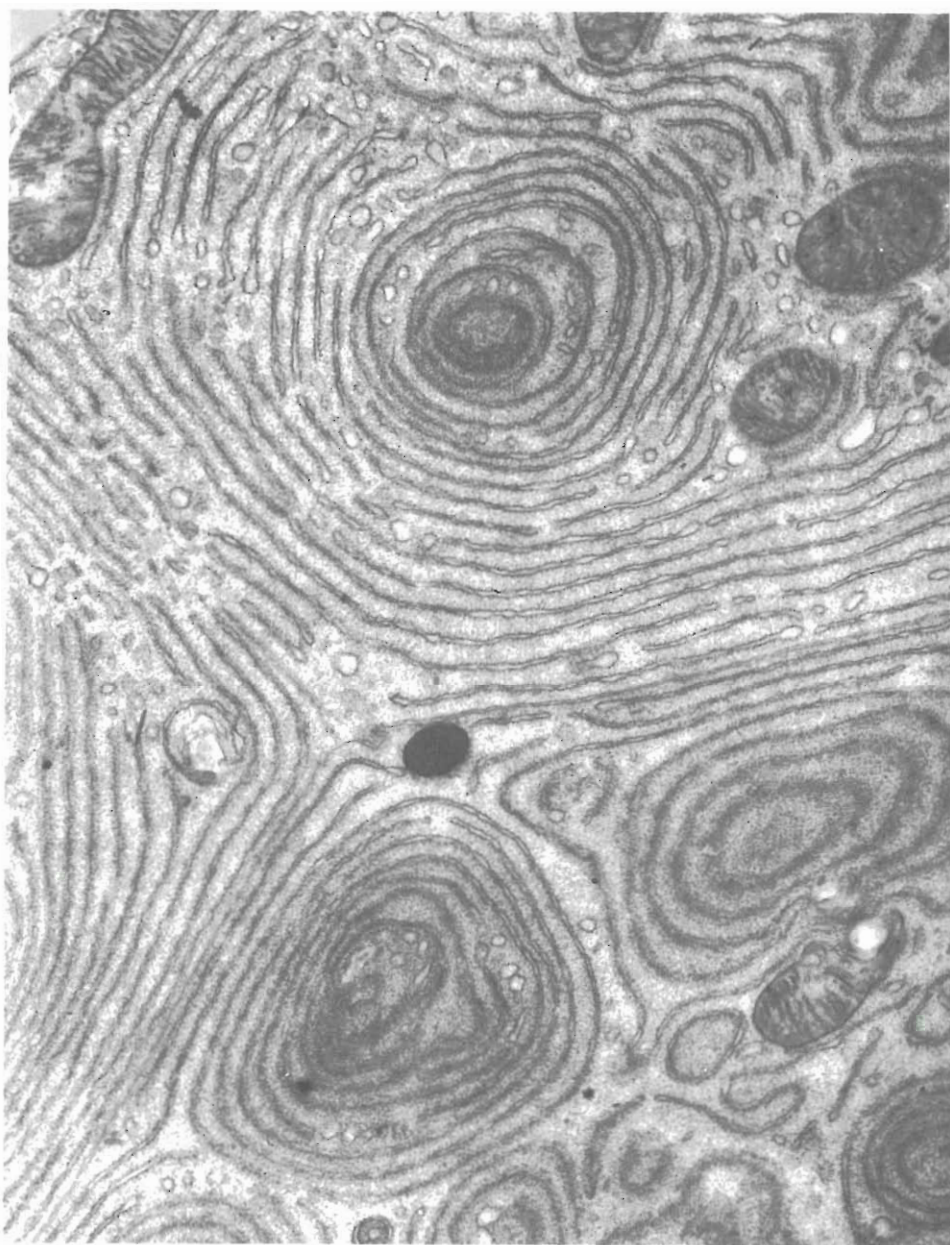
prio l'assenza di strutture interne (che offrono contrasti al microscopio elettronico) cioè il fatto che siano otticamente vuote fa pensare che il loro contenuto sia composto essenzialmente da piccole molecole: alimenti, materiale da costruzione, ecc., che sono trasportati dai luoghi di produzione a quelli di consumo, tutti situati all'esterno delle cisterne, nella fase *extra-cisternale*. Le cisterne sarebbero in questo caso dei canali, delle vie tracciate, che permettono di trasportare senza ostacoli sostanze varie certo più rapidamente di quanto farebbero queste sostanze se dovessero aprirsi faticosamente un varco attraverso la miscela dei ribosomi, dei mitocondri, dei ditirosomi ecc. A queste sostanze toccherebbe soltanto attraversare in un senso o nell'altro la membrana della cisterna, cioè dell'ER.

Questa spiegazione appare la più plausibile, anche se mancano le prove. (Ma sarà sempre così: trarre conclusioni sulle funzioni partendo dalla forma è impossibile, e almeno tanto incerto quanto stabilire la struttura preposta ad una determinata funzione o trasformazione di sostanze. Eppure è proprio questo il non facile compito della biologia cellulare e molecolare: stabilire che forma e funzione sono inseparabili, si condizionano a vicenda e costituiscono in realtà solo due aspetti diversi di un unico fenomeno, che è la vita.)

Esiste però il dubbio che l'ER non serva esclusivamente al trasporto di sostanze. Un nuovo aspetto è stato considerato, quando si è scoperto che l'ER è sovente in collegamento con la "pelle" esterna della cellula, la membrana cellulare, quella superficie cioè che delimita una cellula dalle cellule vicine e (nelle piante) dalla parete cellulare solida. È come se la superficie esterna si estendesse addentrandosi all'interno della cellula, fornendola così, mediante l'ER, di una superficie interna molto ampia. La circostanza è importante, perché quasi tutti i processi, le trasformazioni di sostanze, ecc., si svolgono al livello delle superfici



Punto d'incontro di tre cellule pancreatiche con le cisterne dell'ER particolarmente abbondanti e disposte con regolarità, parallelamente ai limiti della cellula. (I corpi scuri, per lo più ovoidali, sono mitocondri. Vedi a p. 160.)



Sempre cellule pancreatiche come nella figura precedente, ma questa volta ben nutrite. Le cisterne del reticolo endoplasmatico formano qui dei cerchi, o meglio delle sfere concentriche.

limite, sia interne sia esterne. In realtà l'aumento delle superfici è un principio che riscontriamo in tutti gli organismi e in tutte le cellule; vedremo che la sua importanza non si manifesta solo nell'ER.

Il parere che l'ER serva ad un aumento di superficie è piuttosto intuitivo, perché non è ancora stato dimostrato sperimentalmente. Avremmo certamente dati più precisi sulle funzioni dell'ER se potessimo isolarlo, o almeno ottenerne in parte una frazione pura con l'omogeneizzazione e la centrifugazione delle cellule, come si era ottenuta una frazione purificata di ribosomi.

Questa tecnica incontra tuttavia difficoltà insormontabili, perché trituro una cellula si distruggono per primi i collegamenti tra le cisterne e le singole cisterne stesse. È molto dubbio che si possano trarre da questi frammenti conclusioni attendibili sulle funzioni dell'ER intatto. Tuttavia sono in corso tentativi di isolare l'ER preservandolo da danneggiamenti; e chissà che un giorno non abbiano successo!

3.05 Superfici interne ed esterne

Le membrane elementari separano ed uniscono al tempo stesso

Qualsiasi altro compito si attribuisca ancora all'ER, saranno sempre in qualche modo chiamate in causa le membrane, perché separano ed uniscono al tempo stesso. Separano la fase (adibita al trasporto?) intracisternale dalla fase extra-cisternale (elaborante), ma contemporaneamente permettono (controllano?) il passaggio di sostanze dall'una all'altra. Data la loro importanza, queste membrane limitanti sono state studiate attentamente, in particolare su sezioni molto sottili e con microscopi elettronici molto potenti. Non è stato difficile scoprire che sono costituite secondo un piano unitario di struttura, ma che non sono intrinseca-

mente omogenee. Con sorprendente regolarità esse dimostrano di essere stratificate: una linea chiara mediana in mezzo a due linee scure. Evidentemente queste linee rappresentano sezioni perpendicolari di strati. Tutto questo sembra un po' complesso e difficile da capire se ci fermiamo alle apparenze esteriori; è comprensibile invece se consideriamo le ricerche sulla "permeabilità", che sono fiorite particolarmente tra il 1920 e il 1935. Permeare significa passare attraverso, e precisamente attraverso una membrana: permeabilità è la facoltà di una membrana di lasciar passare sostanze disciolte. Si dice anche che una membrana è permeabile. Da innumerevoli esperimenti condotti con le più varie sostanze e tipi cellulari si è visto che la cellula vivente assume più facilmente le molecole piccole delle grosse, e che le sostanze solubili solo in acqua penetrano nella cellula più lentamente di quelle che invece si sciolgono facilmente nei grassi (lipoidi) o in solventi simili ai grassi. Non è necessario scendere in particolari: importa unicamente sapere che la membrana cellulare che regola il passaggio di sostanze alla superficie della cellula deve contenere:

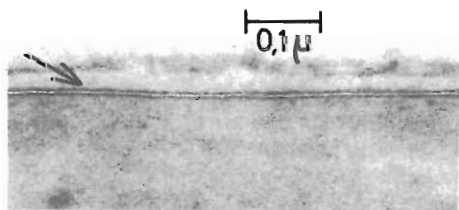
- a) "lipoidi", simili ai grassi e fungenti da sostanze "idrofobe";
- b) "proteine", fungenti da sostanze "idrofile".

Quanto ai lipoidi si sapeva che non si tratta di grassi puri e semplici come gli oli vegetali o il grasso del burro, ma di fosfatidi; cioè la molecola lipidica è unita ad una molecola di acido fosforico (come alcuni composti contenenti azoto, quali la colina e la colamina, la cui formula non interessa). Dei fosfatidi fa parte tra gli altri anche la ben nota lecitina.

Se lasciamo cadere una goccia di lipoide su una superficie d'acqua, cioè sulla superficie limite acqua-aria, questo non si mescola all'acqua, ma si espande su tutta la sua superficie. Se la goccia è piccola e la superficie d'acqua molto grande, la quan-

tità del lipide non basta per ricoprirlo completamente e forma una "macchia d'olio" che ha i suoi limiti. Misurato il volume di lipide usato e la superficie coperta dalla macchia, si calcola facilmente lo spessore della pellicola di lipide distesa sull'acqua. Questo spessore corrisponde alla lunghezza di una molecola lipidica; se ne deduce quindi che il lipide ricopre l'acqua con uno strato monomolecolare. Le molecole del lipide sono piantate verticalmente alla superficie, con un'estremità — quella in cui risiede l'acido fosforico, solubile in acqua, avido d'acqua, in altre parole idrofilo — rivolta verso l'acqua, e l'altra estremità — quella in cui compaiono i residui degli acidi grassi, idrorepellenti, idrofobi — rivolta verso l'aria.

Queste pellicole di lipidi non si trovano soltanto alla superficie limite tra acqua ed aria, ma anche al limite d'incontro tra due differenti fasi acquose, ad esempio tra il corpo cellulare (protoplasma) e la parete cellulare nei vegetali (costituita da cellulosa e quindi anch'essa idrofila). Ma poiché le estremità idrofobe delle molecole di lipidi non hanno predilezione né per il protoplasma né per la parete cellulare esterna, si rivolgono senza esitazione l'una verso l'altra, formando così una pellicola doppia (bimolecolare). Le parti idrofobe di due strati monomolecolari si affacciano, quelle idrofile invece sono rivolte all'esterno in direzione opposta l'una all'altra.



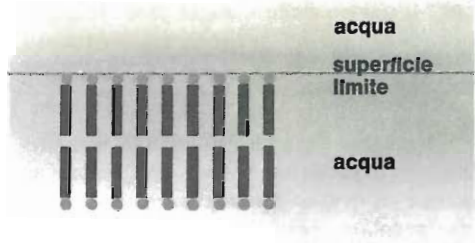
Una membrana elementare, in sezione, appare stratificata. Una linea chiara mediana è delimitata dalle due parti da linee scure.

Una pellicola lipidica bimolecolare non è molto stabile; le sue molecole facilmente si spostano urtandosi l'una con l'altra e possono disfare la pellicola. Per la produzione di uno strato limitante o membrana (per esempio la membrana dell'ER) in un certo senso duratura, i soli lipidi non sono più sufficienti, hanno bisogno delle proteine (idrofili). Anche queste formano molto verosimilmente pellicole monomolecolari (che non si possono misurare esattamente come quelle lipidiche, perché le molecole proteiche possono essere in parte completamente distese, ma in parte anche avvolte ad elica con struttura secondaria, o, se ancora ripiegate, con struttura terziaria (vedi p. 30). Questi strati proteici si dispongono alla superficie esterna ed idrofila della pellicola bimolecolare lipidica. Così com'è stata descritta, la membrana dovrebbe rispecchiare i dati forniti dalle ricerche sulla permeabilità. Gli americani, in modo espressivo, la definiscono "struttura a sandwich": il burro (doppio strato di lipidi) compreso tra due fettine di pane (le pellicole proteiche).

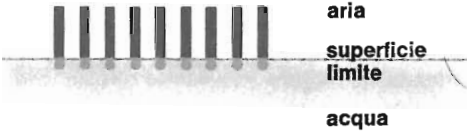
Quanto avevano dedotto e sostenuto i ricercatori sulla permeabilità è stato ottenuto artificialmente dai fisicochimici. In determinate condizioni, nell'acqua contenente lecitina si formano effettivamente delle doppie pellicole; si è persino potuto "fissarle" (rassodarle), renderle perciò durevoli, al punto da poterle osservare al microscopio elettronico. E quanto ci si aspettava, successe davvero: queste pellicole sezionate trasversalmente apparvero esattamente come la parte mediana delle membrane dell'ER, anche nel loro spessore!

È certo più difficile riuscire a depositare su entrambe le parti di queste pellicole di lipidi gli strati di proteine. Ma a rigore non è neppure più tanto importante poterlo attuare, perché nel frattempo si è dimostrato che le membrane visibili al microscopio elettronico possiedono veramente una struttura

a sandwich. Si deve tuttavia far presente che l'immagine delle membrane che ci appare al microscopio elettronico — e precisamente lo strato intermedio chiaro ed i due strati scuri — non corrisponde esattamente alla somma della pellicola di lipoidi + due pellicole proteiche. Le parti scure sono ottenute, come si è fatto con i ribosomi, con l'artificio del contrasto, mediante



Pellicola lipidica bimonocellulare al limite tra due fasi acquose; le facce idrofobe dei due strati si accostano.



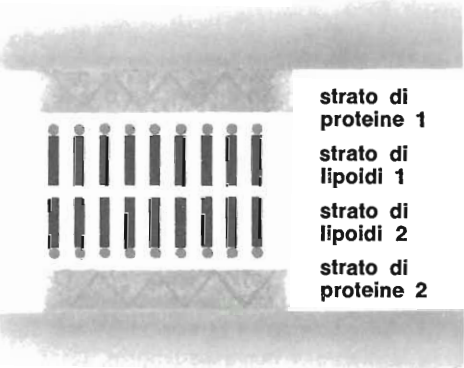
Strato monomolecolare di una pellicola di lipoidi alla superficie limite tra acqua ed aria. Le estremità idrofobe della molecola lipidica sono rivolte verso l'aria.

permanganato di potassio o tetrossido di osmio (acido osmico, di peso molecolare 254). Queste sostanze però non colorano le pellicole proteiche, ma si depongono al limite tra i lipoidi e le proteine (dove finisce il burro ed incomincia il pane). In realtà, la membrana che regola la permeabilità è, nel suo complesso, un po' più spessa dei 70-100 Å forniti dalle misure al microscopio elettronico.

Questi risultati rafforzano l'opinione espressa in precedenza, secondo cui la membrana dell'ER non terrebbe soltanto separate due fasi, ma provocherebbe e regolerebbe anche lo scambio di sostanze tra le medesime. Diventano anche comprensibili i facili cambiamenti di forma dell'ER, benché non siano facili come quelli di una semplice pellicola di lipoidi, essendoci ora gli strati di proteine che stabilizzano il tutto. Ma, in fin dei conti, stabilizzato non significa rigido o cementato. Al contrario. Esattamente come, in seguito all'aggiunta di lecitina, crescono le doppie pellicole artificiali di lipoidi, e

crescono non di spessore ma d'ampiezza di superficie, così anche le cisterne dell'ER possono ingrandirsi o rimpicciolirsi, fondersi insieme o dissolversi.

Ma non è tutto qui. Le membrane non sono solo presenti con meravigliosa regolarità attorno alle cisterne dell'ER: le ritroveremo in tante altre formazioni, che costituiscono la dote inalienabile di molte cellule, come i mitocondri e tante altre ancora. È un elemento costitutivo talmente inconfondibile, che è ormai d'uso chiamarlo "membrana elementare" (in inglese *unit membrane*).



Pellicola bimonocellulare inclusa tra due strati proteici. Questa struttura "a sandwich" funge da modello per le membrane elementari naturali.

3.06 Il nucleo della cellula

Un importante costituente cellulare che permane confuso

Per terminare l'esame del reticolo endoplasmatico, osserviamo ancora una volta una sezione di cellula pancreaticata di pipistrello, rappresentata, sempre con la tecnica del contrasto, alla figura a p. 157. Al centro è situato il nucleo cellulare, esteso fino ai margini della figura, "enorme" e quindi facilmente visibile anche al microscopio ottico. Tutt'attorno ritroviamo le cisterne dell'ER, parallele o altrimenti orientate, che talvolta avvolgono in parte piccoli corpiccioli ovoidali (i mitocondri, che descriveremo a p. 160). Questa figura non sembra dire a prima vista nulla di nuovo sull'ER, ma ad un'osservazione attenta rivela qualcosa di più: il nucleo della cellula è contornato da un doppio involucro, e questo involucro nucleare si presenta

- a) discontinuo con numerose "perforazioni";
- b) con una struttura molto simile a quella dell'ER, quasi ne facesse parte;
- c) come la continuazione delle cisterne dell'ER che in alcuni punti vi sboccano.

Allora questo involucro nucleare fa proprio parte dell'ER? Per quanto inverosimile possa sembrare, è davvero così: ciò che al microscopio ottico appariva come membrana nucleare ed era interpretato come la parte più esterna del nucleo, in realtà non appartiene più al nucleo ma già all'ER. È il reticolo endoplasmatico che avvolge il nucleo e lo delimita dalla sostanza fondamentale, il citoplasma: qui sta la ragione del così facile dissolvimento di questo involucro durante la divisione nucleare (vedi p. 75).

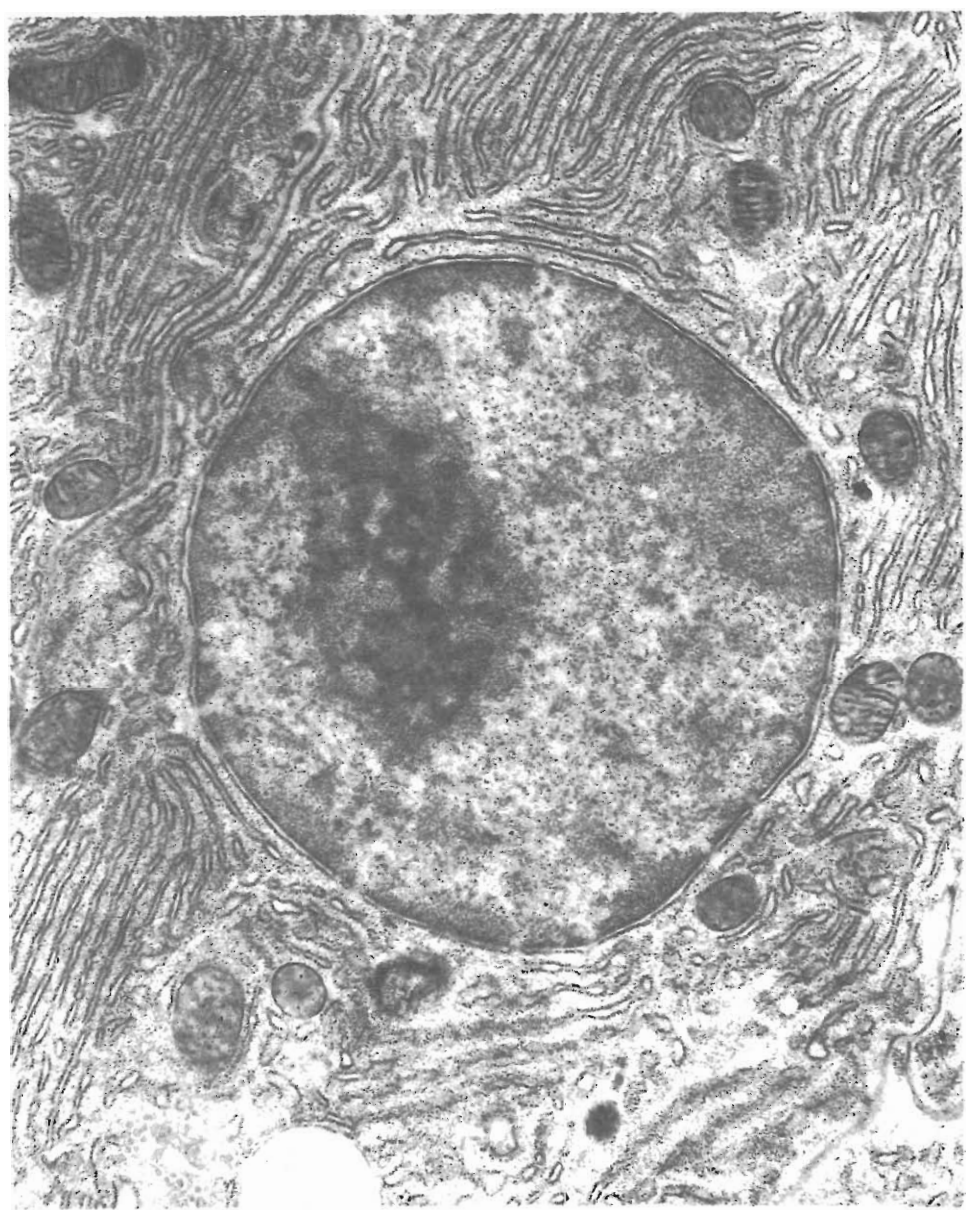
In ogni caso però l'ER non racchiude ermeticamente il nucleo separandolo da quanto lo circonda, cioè dalla fase estra-cisternale (alla quale esso pure appartiene). Esistono

fori o pori per lo scambio di sostanze, per la trasmissione di informazioni genetiche, per l'RNA messaggero, ecc., che però non sempre sono pervi, ma talvolta temporaneamente otturati da tamponi di sostanza più densa e di natura sconosciuta.

Considerati alcuni dei compiti assegnati al reticolo endoplasmatico nella cellula, dobbiamo ora fare la rassegna di altri componenti cellulari almeno altrettanto importanti. Possiamo soffermarci alla stessa figura a p. 157: il nucleo ne occupa quasi la metà. Ma il microscopio elettronico che cosa ci permette di rilevare nel nucleo? Nulla che ci possa specialmente impressionare. La sua sostanza fondamentale è irregolarmente granulosa: vi si notano zone più o meno densamente granulose disposte alla rinfusa, in cui non si riesce a distinguere un ordine speciale. Emerge solo una grossa macchia lenticolare sulla sinistra, stipata di fini granuli e cosparsa di inclusioni più chiare disposte abbastanza uniformemente: si tratta del nucleo (vedi p. 76). Nel nucleo non esistono elementi che provochino separazioni nette; così anche il contorno del nucleolo non è nitido. Le membrane elementari, tanto frequenti nel citoplasma, mancano completamente all'interno del nucleo. Il nucleo considerato è a riposo, cioè nel periodo di "interfase", dato che possiede nucleolo e membrana nucleare (formata dall'ER) intatti, i quali si sarebbero entrambi dissolti se fosse in atto una divisione nucleare. Non possiamo perciò aspettarci di vedere cromosomi compatti e contratti; anzi nel nucleo interfase i cromosomi sono particolarmente rilassati ("de-spiralizzati"), tanto che al microscopio ottico se ne perdono i contorni.

Eppure devono esistere sotto una qualche forma, perché ricompaiono durante la profase della successiva divisione nucleare; mantengono la loro individualità ed i limiti di ciascuno rispetto agli altri. La speranza di poter scorgere questi contorni, almeno al microscopio elettronico, è andata delusa.

Da che cosa dipende? Perché nel plasma



Sezione di cellula con nucleo e nucleolo (centro), membrana nucleare, cisterne e reticolo endoplasmatico.

che circonda il nucleo troviamo una così grande quantità di strutture ben definite, mentre il nucleo, portatore dell'informazione genetica e quindi settore altamente organizzato, appare tanto tipicamente disordinato? Esiste realmente questa differenza, oppure è soltanto un'illusione?

Può sorgere il dubbio che le tecniche usate per preparare un oggetto all'osservazione col microscopio elettronico ci traggano in inganno. Particolarmente sospette sono le tecniche di uccisione delle cellule. L'uccisione della cellula è inevitabile, perché dobbiamo disidratarla, includerla in resina sintetica, affettarla, ed infine sottoporla al vuoto pneumatico del microscopio elettronico. Ma nel nostro caso uccidere dovrebbe avere il significato di "fissare", cioè di cogliere e bloccare un certo aspetto, una struttura, in modo tale da evitare che le successive manipolazioni tecniche possano alterarla. Il nocciolo della questione è sapere se l'aspetto che abbiamo fissato corrisponda in tutti i particolari a quello della cellula vivente, oppure se ne rappresenti soltanto un'immagine approssimativa, e se così è, con quale grado di approssimazione.

Il mezzo usato per la fissazione (fissatore) deve in primo luogo penetrare nella cellula e sviluppare la propria azione il più rapidamente possibile: deve sorprendere la cellula in modo da non concederle il tempo e la possibilità di mutare le sue strutture. Devono perciò essere subito inattivati gli enzimi e con essi le proteine: se ne rimasero di intatti, potrebbero continuare la loro attività, producendo o demolendo sostanze in modo incontrollato, e quindi provocare in tempi successivi un qualcosa che diversamente non si sarebbe mai prodotto. Le proteine che perdono le loro virtù, passando dallo stato naturale attivo a quello di inattività, si dicono denaturate. Di regola il processo di denaturazione è sufficiente per fissare non solo le proteine ma anche altri gruppi di sostanze, come ad esempio i grassi ed i lipoidi. Ma questi ultimi general-

mente non vengono denaturati e rimangono depositati come tali. Uno degli inconvenienti maggiori è l'eventuale dissoluzione e perdita dei grassi durante i trattamenti successivi, come ad esempio quando si usano sostanze chimiche che li sciolgono. Con le proteine non c'è quasi nulla da temere. La denaturazione per lo più le "appiccica" formando una rete insolubile. Per contro in questo caso occorre tener presente un altro inconveniente: le proteine denaturate non solo si irrigidiscono istantaneamente nella loro forma, ma anche perdono molta acqua alla quale prima erano legate (le proteine sono idrofile), con conseguente perdita di volume e con contrazione.

Per non scendere in troppi particolari, limitiamoci a prendere atto che una cellula fissata non è mai identica a quella vivente, e che perciò le immagini del microscopio elettronico non rappresentano assolutamente la reale costituzione della cellula viva. Ricordiamo sempre gli artefatti di fissazione, che sono strutture prodotte artificialmente. È dovuto trascorrere molto tempo prima che i microscopisti, con lunghe discussioni, si convincessero che determinate immagini rappresentano strutture reali e non consistono invece di soli artefatti. A queste conclusioni si è pervenuti quando, operando con diversi mezzi di fissazione, sugli oggetti più vari si sono sempre resi visibili gli stessi particolari, o quasi. Quale esempio possiamo citare le membrane elementari: la loro stratificazione, il loro spessore ed i loro percorsi si ripetono con una costanza convincente. Ma non dobbiamo dimenticare che non avremo mai sott'occhio le vere strutture, bensì soltanto strutture equivalenti, che cioè corrispondono a quelle esistenti nella cellula vivente, ma che non le ripetono esattamente.

Se ne deduce che il fissatore ideale non esiste e non può esistere. Secondo il particolare che si desidera mettere in evidenza — reticolo endoplasmatico o ribosomi, nucleo cellulare o dittiosomi — conviene usa-

re un mezzo di fissazione diverso: permanganato di potassio, tetrossido di osmio, formolo, solo per citare alcuni ingredienti chimici.

Per certe indagini particolari si usa una tecnica che non agisce chimicamente ma fisicamente: la tecnica del "congelamento e disidratazione" (in inglese *freeze-drying: to freeze*, congelare; *to dry*, essiccare). Il materiale che si intende esaminare viene tagliato in piccoli frammenti e congelato rapidamente, ad esempio immergendolo in glicerina molto fredda, che non solidifica neppure a -20°C , trattandolo con della neve carbonica ($-78,5^{\circ}\text{C}$) oppure con aria liquida (all'incirca -190°C). Effettuato il congelamento, le cellule o i blocchetti di tessuto vengono posti sotto vuoto spinto per giorni interi, talvolta per settimane. Ne consegue un'evaporazione graduale e delicata dell'acqua e di qualsiasi altra sostanza evaporabile; alla fine rimane lo "scheletro" della cellula essiccata che si può sottoporre alle ulteriori manipolazioni. Questa tecnica è di applicazione abbastanza difficile, ma fornisce buoni risultati, che corrispondono sovente esattamente a quelli ottenuti con la tecnica del tutto differente dei fissatori chimici, il che è rassicurante. Tuttavia appare qualcosa di diverso, quando si usa la tecnica del congelamento e disidratazione.

Citiamo due esempi. Il primo concerne le membrane dell'ER che compaiono scure su sfondo chiaro nelle cellule fissate chimicamente; mentre col congelamento e disidratazione si ottiene proprio il contrario. Probabilmente alcuni componenti del plasma fondamentale vengono distrutti dall'azione degli ingredienti chimici. Il secondo esempio si riferisce ai ribosomi che non si riescono assolutamente a rintracciare sotto forma di granuli dopo la fissazione con congelamento e disidratazione. Non è però il caso di dedurre subito che i ribosomi delle sezioni fissate "normalmente" sono sempre degli artefatti, perché dal materiale congelato, disidratato e successivamente omogeneizzato

e centrifugato si possono isolare ribosomi perfettamente funzionanti: essi sono quindi ben presenti e soltanto invisibili al microscopio elettronico. (D'altronde, la soddisfazione d'aver potuto stabilire una corrispondenza tra i risultati delle diverse tecniche di fissazione non deve farci dimenticare che il microscopio elettronico, alla fin fine, può solo fornirci immagini di strutture equivalenti.)

Come possiamo dunque rispondere al quesito che ci siamo posti dianzi? L'aspetto disordinato del nucleo durante l'interfase si deve attribuire all'uso di un fissatore non adatto, o ad una mancanza reale di strutture ordinate? Forse la prima ipotesi non è del tutto errata, e chissà che un giorno non si possa scoprire un buon fissatore del nucleo. Ma probabilmente non è proprio così; in fin dei conti si conoscono ottimi fissatori per la conservazione di tutti gli altri componenti cellulari da almeno trent'anni. E così la seconda ipotesi acquista maggiore validità. L'assenza costante di un ordine rilevabile al microscopio elettronico si spiega se si pensa che la disposizione ordinata dell'informazione genetica risiede, a livello molecolare, nella sequenza dei nucleotidi o meglio delle terne, e che tale disposizione è così rigorosa da rendere superflua la sovrapposizione di strutture più complesse (più grossolane) come lamelle, membrane e simili.

S'intende che ciò vale soltanto per il nucleo interfase. Durante la divisione nucleare l'informazione genetica deve passare nella forma trasportabile (vedi p. 73 e segg.) costituita dai cromosomi contratti, che sono così compatti da rendersi visibili anche al microscopio ottico. Tralasciamo per ora la morfologia dei cromosomi, fino a quando, nel prossimo capitolo, avremo esaminato il funzionamento e la regolazione della trasmissione dell'informazione. Forma e funzione sono in questo caso talmente interdipendenti, che non sarebbe possibile comprendere l'una senza l'altra.

3.07 I mitocondri

Centrali d'energia della cellula

Sebbene la figura a p. 157 ci dica ben poco sulla struttura del nucleo, diamole ancora uno sguardo. Accanto all'ER, al di fuori delle cisterne, si notano diversi corpiccioli di forma ovoidale o sferica e ben contrastati: poco fa li abbiamo chiamati mitocondri.

Mitocondrio significa "filamento di granuli". Il nome fu coniato all'inizio del secolo (perciò molto tempo prima dell'era elettronica), per indicare piccoli filamenti visibili col microscopio ottico in vivo o più sovente in cellule fissate. La loro esistenza fu a lungo contestata, sia perché non si rinvenivano regolarmente, scomparivano e ricomparivano, cambiavano sovente di forma, smembrandosi, sia soprattutto perché, da un punto di vista fisiologico, non si sapeva come interpretarli. Avevano una funzione? E quale? Bisognava davvero credere agli autori che li consideravano i centri respiratori della cellula?

In questo caso il microscopio elettronico (ma anche, come si vedrà, la centrifuga) ha compiuto meraviglie, ed ha reso possibile stabilire incontrovertibilmente che i mitocondri fanno costantemente parte del corredo di ogni cellula. (Per maggior precisione dovremmo dire: di ogni cellula nucleata. Ad esempio le cellule batteriche che non possiedono un vero nucleo, ma soltanto un genoma sotto la forma di una doppia elica di RNA, contengono tutt'al più formazioni simili a mitocondri e di struttura molto più primitiva.)

Ma i mitocondri veri e propri hanno in generale forma ovale o sferica e non filamentosa; il loro diametro massimo arriva a circa $1\ \mu = 1/1.000\ \text{mm}$, quindi al limite del potere di risoluzione del microscopio ottico. Con l'allineamento di più mitocondri si formano quei filamenti che si vedono comunemente. Non c'è da stupire perciò se con lo sgreto-

lamento in singoli mitocondri questi filamenti talvolta apparentemente scomparivano. La figura in precedenza considerata mostra una dozzina di singoli mitocondri caratterizzati da una strana striatura trasversale. Non sono molto nitidi, forse perché il preparato è stato allestito per mettere in rilievo l'ER, e secondo nostre esperienze la scelta del fissatore e della tecnica di inclusione potrebbe non essere sempre adatta a conservare in buone condizioni i mitocondri.

La figura a p. 162 rivela invece particolari molto più numerosi, nonostante i mitocondri siano stipati l'uno contro l'altro ed abbiano i contorni circolari deformati. Ma interessa il contenuto e non il contorno. Nell'interno, immerse in una sostanza fondamentale, compaiono sottili "strie", il cui perimetro è delimitato da una membrana elementare. Queste terminano libere in tale sostanza, oppure si prolungano fino ad incontrare la parete del mitocondrio che lo delimita da quanto lo circonda. Ma una sola sezione non fornisce ancora indicazioni sufficienti sulla disposizione spaziale delle strutture esistenti all'interno dei mitocondri. Per poterla ricostruire dobbiamo osservare e disegnare diverse sezioni successive dello stesso mitocondrio. Ne risulta l'immagine schematica delle figure a p. 163 in cui si nota che le strie in realtà rappresentano sezioni di lamelle appiattite e più o meno parallele, che attraversano da una parete all'altra tutto il mitocondrio. Queste lamelle solo di rado si estendono su tutta la sezione del mitocondrio (ed è per questo che alcune strie più corte delle altre si perdono nella sostanza fondamentale). La parete del mitocondrio è doppia. (Attenzione a non confonderla nel suo insieme con una membrana elementare!) Ciascuna delle due parti che la compongono è una membrana elementare; lo spazio esistente fra di esse corrisponde pressappoco ad una cisterna dell'ER. Le lamelle che vediamo come strie sono nella realtà introflessioni della membra-

na interna, e sono denominate "setti", oppure più di frequente *cristae mitochondriales*. Esse danno anche il nome a questa specie di mitocondrio che è detto *tipo a creste* (o crestato); non tarderemo a conoscere un altro tipo.

Concludendo: la parte interna di un mitocondrio (detta anche matrice) è solcata e addirittura suddivisa da setti che prendono origine dalla parete del mitocondrio stesso, la quale è costituita da una membrana elementare esterna e da una interna. I setti, che derivano da una introflessione della membrana interna, hanno quindi a loro volta entrambe le facce formate da membrane elementari che li delimitano verso la matrice.

Il microscopio elettronico non solo ha confermato le osservazioni effettuate con il microscopio ottico, ma ha pure messo in luce una quantità di altri particolari. In definitiva lo spessore di una membrana elementare è di circa $70 \text{ \AA}$ e quello dello spazio compreso tra le due membrane elementari di una cresta, di circa $60 \text{ \AA}$; perciò le linee di demarcazione di un setto distano approssimativamente $200 \text{ \AA} = 20 \text{ m}\mu = 1/50 \mu$. I mitocondri della figura a p. 162 sono di cellule cardiache, mentre quelli della figura a p. 164 sono di paramecio; confrontati, appaiono un po' diversi. La forma esterna e le dimensioni sono le stesse, ma all'interno di questi ultimi si notano tubuli intricati e disordinati accanto a cerchi. Anche questi tubuli sembrano in connessione con la parete esterna del mitocondrio, come le creste degli altri. La ricostruzione di un modello tridimensionale (figura a sinistra a p. 163) mostra che in questo caso non sono setti o creste che crescano dalla membrana interna della parete penetrando nella matrice, ma lunghi tubuli che poi si aggrovigliano. Se vengono sezionati nel senso della lunghezza hanno l'aspetto di dotti; se in senso trasversale, quello dei citati cerchi. Questi mitocondri sono detti, con riferimento alle suddette introflessioni digitiformi della

membrana interna, di *tipo a tubuli* (o "tubolare"). Qui ci si potrebbe chiedere se si tratta soltanto di due tipi diversi di mitocondri o piuttosto di due "organi cellulari" ("organelli") totalmente diversi. Effettivamente esistono molte somiglianze nelle dimensioni, nel contorno, nella conformazione a doppie membrane, nella matrice, eccetera. Si deve pure ammettere che in entrambi i casi avviene, quale condizione essenziale, un enorme aumento della superficie interna. Ma questa specialità era già stata notata nel reticolo endoplasmatico e nelle sue connessioni con la parte più esterna del citoplasma (cioè con la membrana cellulare; vedi p. 150). Esistono quindi aumenti di superficie anche al di fuori dei mitocondri; potremmo davvero chiederci se i mitocondri di tipo crestato e tubolare non possano essere organi di natura diversa.

L'obiezione è giustificata. Se dovessimo giudicare soltanto in base alle fotografie effettuate con il microscopio elettronico, saremmo imbarazzati a negarlo. Per affermare con sicurezza il contrario bisognerebbe dimostrare che ambedue i tipi di mitocondrio derivano da una stessa forma primitiva comune: ma noi rinviando a più tardi i processi evolutivi. Una cosa tuttavia ci rende perplessi: i mitocondri di tipo crestato e tubolare non si trovano mai contemporaneamente nella stessa cellula. Generalmente le forme a tubulo si trovano solo in unicellulari altamente organizzati come gli infusori (o ciliati), mentre le forme a cresta si trovano in animali e vegetali superiori. (Inoltre i vegetali talvolta — ma più raramente — possiedono anche un terzo tipo di mitocondrio, detto *tipo a sacculi*. Le sue introflessioni si dilatano in sacculi e non si appiattiscono come nel tipo a creste.)

L'esclusione reciproca dei due tipi di mitocondri non basta ancora per autorizzarci a considerarli come variazioni di uno stesso ed unico genere di organello cellulare. Fortunatamente vi sono altre prove per giustificare questa ipotesi; ritorna in scena la cen-



Mitocondri di una cellula muscolare cardiaca. Tipo "a creste".

trifuga di cui abbiamo parlato frettolosamente a p. 160. Ciò che non è stato possibile fare coll'ER, cioè estrarlo intatto dalle cellule omogeneizzate, è invece possibile con i mitocondri. Raggiunto un certo numero di giri al secondo (da 10 a 20 mila) si deposita una frazione costituita quasi esclusivamente da mitocondri; con ripetuti lavaggi ed altre centrifugazioni se ne ottiene una frazione purificata (controllabile al microscopio elettronico).

Se confrontiamo frazioni purificate di diversi tipi di mitocondri, riferendoci per il momento alla loro composizione chimica, troviamo costantemente un contenuto dell'85 %

d'acqua. Questa percentuale d'acqua non ha un gran significato, perché sovente corrisponde a quella di cellule intere. Assai più importante è la composizione del residuo di sostanza essiccata, costituito regolarmente da proteine e da lipoidi in parti uguali. (Il 90 % di questi ultimi appartiene ai fosfatidi, descritti a p. 153). Questa circostanza dovrebbe essere in relazione all'abbondanza nei mitocondri di membrane elementari, che formano i numerosi setti proiettati all'interno, e che sono costituite, come si è visto, da una pellicola bimolecolare di lipoidi e da due pellicole proteiche addossate una per lato, il che significa, calcolato all'ingrosso, un

rapporto di 1:1 tra la quantità di proteine e quella di lipoidi. Gli altri organelli cellulari, ma soprattutto la sostanza fondamentale del plasma, hanno un contenuto di lipoidi molto inferiore. (Gli acidi nucleinici, se compaiono nei mitocondri, sono in quantità minima.) Ma esaminandone le funzioni, ogni dubbio sull'appartenenza dei mitocondri di tipo crestato e di tipo tubolare allo stesso gruppo di organelli cellulari scompare. A tal fine conviene indagare se i mitocondri contengono enzimi e, in caso affermativo, quali: se ne potranno così dedurre le funzioni metaboliche. I mitocondri sono effettivamente molto ricchi di enzimi; in ogni caso contengono in gran quantità gli enzimi che hanno una parte nella respirazione cellulare.

3.08 La respirazione²

Combustione di carburanti e produzione di ATP

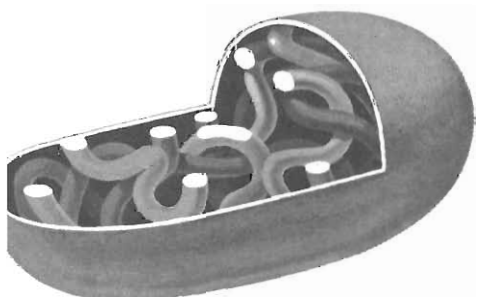
Senza entrare nei particolari delle formule chimiche, possiamo subito dire che la respirazione, intesa come combustione (ossidazione) di glucosio ($C_6H_{12}O_6$) e produzione di anidride carbonica ($6 \times CO_2$) ed acqua ($6 \times H_2O$), se avvenisse di colpo libererebbe una tale quantità di energia che la cellula non potrebbe utilizzarla e finirebbe col bruciare anch'essa. Perciò la reazione com-

plessiva è suddivisa in numerose reazioni parziali, rette ciascuna da almeno un enzima.

Il primo gruppo di reazioni, di circa 10 tappe, è detto glicolisi (= scissione dello zucchero) e si svolge *in assenza* di ossigeno, cioè come processo *anaerobico* (aerobiosi = vita in presenza d'aria; anaerobiosi = vita senz'aria). Esso va dal glucosio alla formazione di acido piruvico, che abbiamo già incontrato a p. 57.

Molti organismi, ad esempio molti lieviti, si limitano a questo primo stadio dell'ossidazione. Dall'acido piruvico eliminano ancora soltanto CO_2 (decarbossilazione), vi apportano idrogeno (che in uno scalino precedente della reazione era stato liberato e "stivato") e formano così alcool etilico: è la fermentazione alcolica. Inoltre in questa reazione producono anche una molecola di fosfato ricco di energia, cioè di ATP.

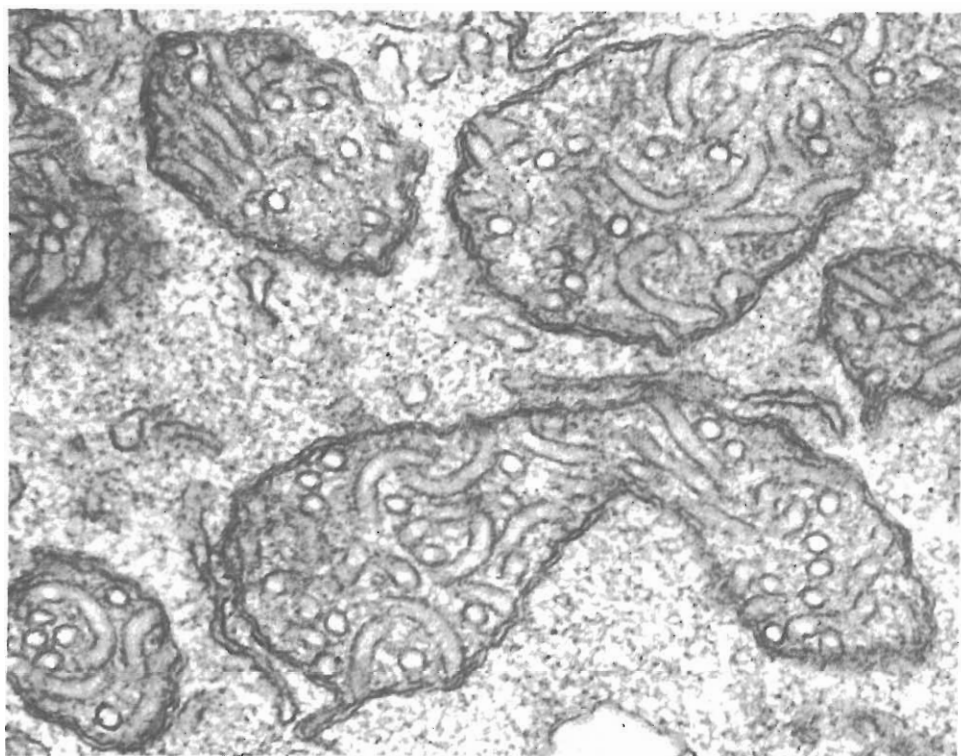
Questa parte della respirazione, detta "glicolisi anaerobica", non si effettua nei mitocondri, che sono invece preposti alle tappe successive, le quali rientrano nel ciclo dell'acido citrico e costituiscono la "respirazione terminale", ormai nota in tutti i suoi particolari. A noi interessa solo il principio: l'acido piruvico iniziale è in tempi successivi ancora scisso in CO_2 e H_2 (idrogeno); infine l'idrogeno è ossidato dall'ossigeno atmosferico con formazione di H_2O . (Questa parte



Ricostruzione di un mitocondrio di tipo tubolare.



Ricostruzione di un mitocondrio di tipo crestato.



Mitocondri di paramecio di tipo tubolare.

della reazione è, di conseguenza, aerobica.) Siccome sia il CO_2 sia l' H_2O sono composti energeticamente privi di valore, l'energia che era prima racchiusa nell'acido piruvico deve essersi trasferita altrove. Una piccola parte si è trasformata in calore, mentre ritroviamo la parte maggiore in un nuovo composto: l'adenosintrifosfato (ATP) che conosciamo già come accumulatore universale di energia nella cellula.

L'ottenimento dell'ATP può essere considerato lo scopo principale della respirazione. Ma l'ATP si forma con l'aggiunta di una terza molecola di acido fosforico all'ADP preesistente, il che è detto "fosforilazione" dell'ADP in ATP. E siccome questa fosforilazione è accompagnata da consumo di ossi-

geno, si chiama anche fosforilazione ossidativa. I mitocondri, sia di tipo crestato sia di tipo tubolare, sono i luoghi della fosforilazione ossidativa, e forniscono l'ATP per tutti quei processi che hanno bisogno di energia. Sono quindi giustamente detti le "centrali di energia della cellula". Queste conclusioni sarebbero convincenti ma non obbligatoriamente esatte, se fossero state raggiunte soltanto con l'accertamento della presenza di tutti gli enzimi respiratori nei mitocondri. I risultati della tecnica di frazionamento però ci conducono ben oltre. Si può dimostrare con misurazioni che i mitocondri proseguono la respirazione anche in provetta, assumendo O_2 e fosfati, producendo CO_2 ed ATP. Bisogna solo fornire loro materiale e

fosfati a sufficienza, come anche un certo numero di co-fattori (ad esempio l'ADP). Non è il caso di citarli tutti. Occorre solo una premessa: i mitocondri che fossero messi in acqua dopo la centrifugazione subirebbero uno choc osmotico, si gonfierebbero e scoppierebbero, come i batteriofagi (vedi a p. 112). Evidentemente non si potrebbe più parlare di respirazione. Perciò nel liquido della sospensione si aggiunge saccarosio in quantità tale che la sua concentrazione osmotica corrisponda il più possibile a quella esistente nell'interno del mitocondrio. Se non vi è corrispondenza esatta, o se manca qualche co-fattore, i mitocondri subiscono ugualmente un leggero rigonfiamento; continuano ad assumere O_2 e ad eliminare CO_2 , ma cessano la produzione di ATP. L'ossidazione e la fosforilazione, che prima procedevano di pari passo, sono così disgiunte. La respirazione funziona a vuoto, senza adempiere al suo scopo, che è quello di produrre ATP, ed i mitocondri non tardano ad alterarsi completamente. Questa "disgiunzione" è importantissima per la comprensione di molti processi biochimici, ma discuterne ci porterebbe troppo lontano. Possiamo considerare questa associazione dei due processi nella fosforilazione ossidativa come indice dell'integrità dei mitocondri e del loro normale funzionamento, sia in provetta sia nella cellula vivente. (Detto per inciso, i mitocondri probabilmente eseguono anche altre reazioni biochimiche, come ad esempio quella di fabbricare aminoacidi.)

Se per molte reazioni in provetta è importante ottenere mitocondri interi ed inalterati, per molti altri scopi è utile poter disporre di frammenti di mitocondri. Le reazioni di fosforilazione in tal caso decadono irrimediabilmente, ma gli enzimi che demoliscono un po' alla volta l'acido piruvico sono ancora attivi. Frammenti piccolissimi di mitocondri sono soltanto in grado di promuovere una o due reazioni intermedie, mentre frammenti di maggiori dimensioni possono portare a termine molte tappe successive. Se

ne è tratta la conclusione che sulle creste o sui tubuli gli enzimi che "lavorano di conserva" sono posti l'uno accanto all'altro, e che il substrato da elaborare è trascinato da enzima ad enzima come su di un nastro trasportatore. Gli enzimi nei mitocondri sono accostati in file, come negli operoni i geni di struttura responsabili della produzione degli enzimi che agiscono in comune (vedi p. 206 e segg.). Per ora possiamo meravigliarci soltanto di questa circostanza, non ancora spiegarla.

Dopo quanto la scienza ha chiarito, con microscopio elettronico e centrifuga, sulla natura dei mitocondri, non stupisce più trovarli in tutte le cellule: sono strutture di importanza vitale per ogni cellula. L'ATP è richiesto ovunque, e talvolta anche in forti quantitativi e velocemente; quindi, in un organismo pluricellulare, una centrale unificata che provveda di ATP tutte le altre cellule non sarebbe adatta: il tempo richiesto dal trasporto sarebbe eccessivo.

Tuttavia cellule come quelle del lievito, che traggono il loro fabbisogno di ATP dalla fermentazione alcolica, potrebbero sopravvivere senza mitocondri. Eppure ne possiedono, anche se scarsi e non completamente formati. Ma appena queste cellule passano dalla fermentazione alla respirazione — il che avviene generalmente quando c'è ossigeno a disposizione — ricompaiono anche i mitocondri, numerosi ed altamente efficienti.

Dovremmo aspettarci di trovare mitocondri particolarmente numerosi nelle cellule con elevato bisogno di energia, come le cellule muscolari del corpo umano ed animale. L'accorciamento e l'allungamento di un muscolo, di una cellula muscolare, dipende dalla contrazione e dal rilassamento di molecole proteiche, riunite a centinaia in fasci paralleli nelle fibrille muscolari dette miofibrille³.

Fin dal primo capitolo abbiamo parlato di catene polipeptidiche che passano dalla forma distesa a quella accorciata di α -helix,

o a quella ancora più corta di β -helix, e viceversa. È noto a tutti che la contrazione esige un apporto di energia: se solleviamo un oggetto pesante da terra e lo poniamo su di un tavolo, produciamo in pochissimo tempo un certo lavoro. Di conseguenza anche le cellule muscolari hanno improvviso bisogno di molto ATP.

Anche il muscolo del cuore deve eseguire di continuo un lavoro pesante. Osservando quindi nuovamente la figura a p. 162, che rappresenta una cellula muscolare cardiaca di ratto, notiamo, a conferma, un addensamento di molti mitocondri crestati (in numero molto maggiore che nel paramecio della figura a p. 164). Inoltre la direzione della sezione della cellula muscolare cardiaca non è stata scelta in modo felice. Se ci procuriamo sezioni esattamente parallele alla direzione delle fibrille muscolari, ci appare un ordine incredibile (vedi figura a p. 168). Alle fibrille, chiare e striate sia longitudinalmente sia trasversalmente, si alternano con regolarità colonne scure di mitocondri, sovente persino squadrati, con creste numerose e fitte.

Tutto ciò emerge ancora più chiaramente dallo schema della figura a p. 169, ricostruito sulla base di numerose microfotografie, e che rappresenta solo un frammento di cellula: ma quanti particolari e che ordine nei vari elementi! Si pensa che questi mitocondri stipati forniscano ATP a sufficienza per la contrazione delle fibrille, e che questa architettura sia in tutti i particolari la più adatta, specialmente riguardo alla brevità del tratto che deve percorrere l'ATP dal luogo di produzione a quello di utilizzazione.

3.09 I dittiosomi

Vescicole e cisterne

Nella misura del possibile abbiamo sempre cercato di evitare cenni storici quando bisognava presentare nuovi problemi o nuo-

ve strutture, nell'interesse del lettore, al quale gli errori del passato importano molto meno delle scoperte e delle invenzioni dei tempi recenti. Ma eccezionalmente è indispensabile un riferimento storico, se vogliamo comprendere la denominazione delle strutture trattate in questo paragrafo. Infatti, dittiosomi significa "corpi reticolati", mentre effettivamente non hanno la minima somiglianza con una rete.

Nel 1898 l'anatomista italiano Camillo Golgi riferiva di aver osservato in certe cellule nervose un "apparato reticolare interno" e gli attribuiva molta importanza. I suoi contemporanei — già portati alle abbreviazioni, anche se in misura più moderata di oggi — denominarono brevemente queste strutture "apparato del Golgi". In seguito fu ritrovato in numerose altre cellule animali e più tardi anche vegetali, ma soprattutto in cellule ghiandolari: sembrava essere in rapporto con la secrezione. Talvolta pareva smembrarsi in unità minori indipendenti, per le quali fu proposto il nome di dittiosomi. Tutto il resto rimase a lungo nell'oscurità (vedi le figure a p. 170 e 171).

Anche in questo caso il microscopio elettronico ha chiarito i punti oscuri. I dittiosomi esistono veramente, ma non sono collegati fra di loro, o almeno non lo sono in modo da formare un reticolato. Perciò il termine di apparato del Golgi oggi può soltanto più essere usato per *l'insieme* di tutti i dittiosomi di una cellula (ma talvolta alcuni autori usano purtroppo la denominazione di apparato del Golgi per i singoli dittiosomi). La figura a p. 170 rappresenta la sezione di una cellula della cuffia di una radice di mais. Si notano (in basso e a destra in alto) due dittiosomi sezionati, mentre il rimanente della figura è occupato da numerose vescicole. I dittiosomi sono rappresentati da pile schiacciate di sacchetti — in numero da 3 a 5 — appiattiti, contornati da una membrana, e con i bordi dilatati in vescicole. Nelle immediate vicinanze si notano altre vescicole di simile struttura, ma

che non sono (più) collegate ai sacchetti citati e sembrano essersene staccate da poco tempo.

Uno schema tridimensionale, ricostruito anche in questo caso secondo numerose sezioni in serie, lascia meglio vedere questa "connessione interrotta". Si nota subito che i sacchetti, detti anche "cisterne del Golgi", formano quasi dei dischi molto piatti, disposti parallelamente (nello schema a p. 171, per maggiore chiarezza, è stato meno accentuato il loro inarcamento), e dilatati sui bordi, in vescicole sferiche. Molte di queste vescicole appaiono però già isolate e distribuite tutt'intorno: si chiamano "vescicole del Golgi".

Solo molto di rado, come in questo caso, è possibile ottenere indicazioni sulla funzione di una struttura mediante le immagini di sezioni, cioè con fotografie istantanee. Molto probabilmente nelle cisterne del Golgi si produce un qualcosa che è spinto e depositato ai margini del disco, e di qui poi abbandonato nella cellula mediante strozzamento e distacco di vescicole. Ma di quali sostanze si tratta?

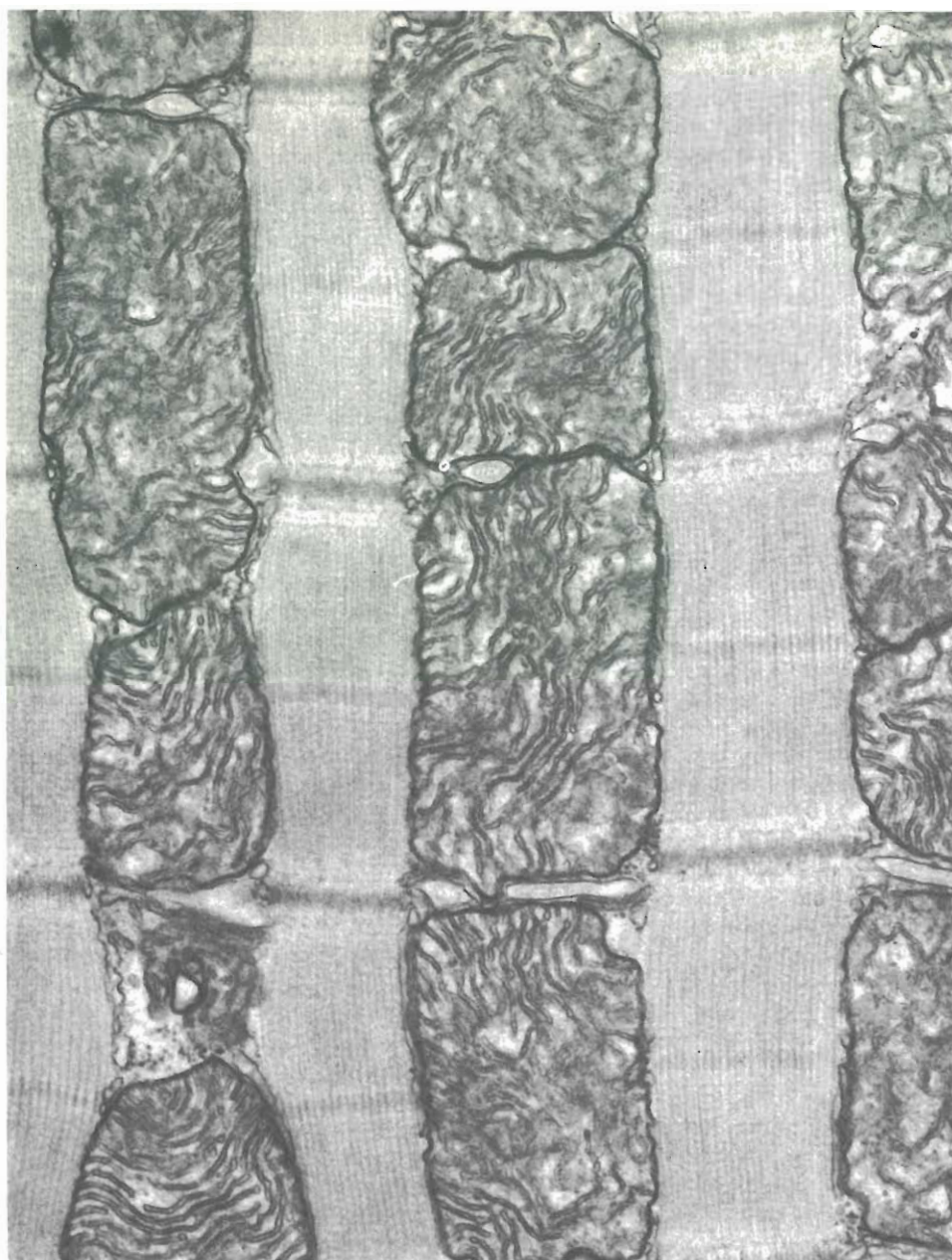
Un vegetale studiato bene a tale proposito è il *Drosophyllum lusitanicum*, una specie affine alla nostra *drosera*, *Drosera rotundifolia* (vedi figura a p. 172). A somiglianza di questa possiede sulle foglie numerosi "tentacoli", sferette peduncolate provviste di molte cellule ghiandolari, nelle quali si produce una mucosità vischiosa per la cattura degli insetti, che è secreta alla superficie delle sferette. Brilla come una goccia di rugiada al sole, ma è estremamente appiccicosa, tanto che se un insetto la sfiora ne è immancabilmente trattenuto. (Il suo corpo è in seguito disciolto e digerito dalla pianta con enzimi emessi successivamente. È come una fonte supplementare di nutrimento.) Ancora oggi in certi villaggi portoghesi si usano piante di *Drosophyllum* messe in vaso come acchiappamosche, tanto efficace è il loro muco per la cattura degli insetti.

Com'era prevedibile, le cellule ghiandolari

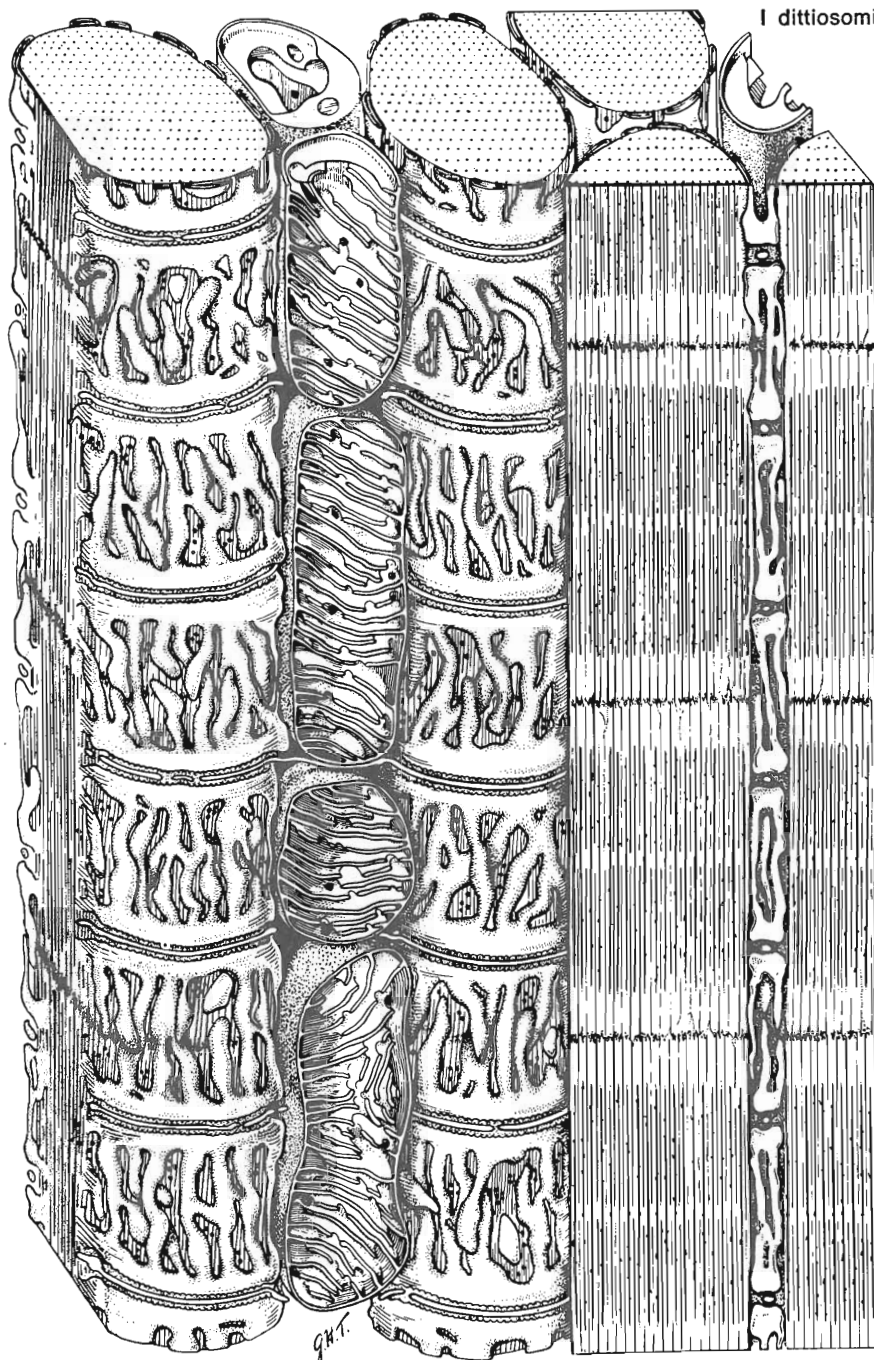
che producono questa mucosità sono particolarmente ricche di dittiosomi e vescicole del Golgi, il cui numero per giunta cambia con lo stesso ritmo della produzione del secreto. Non esiste alcun dubbio: questa mucosità vischiosa è prodotta, o almeno composta, nelle cisterne dei dittiosomi.

D'altronde sappiamo che quasi tutte le sintesi chimiche hanno bisogno di energia, proprio sotto forma di ATP. E infatti nelle cellule ghiandolari, accanto ai dittiosomi, troviamo anche abbondanti mitocondri. Se blocchiamo la respirazione — con particolari veleni che "disgiungono" la fosforilazione ossidativa — non si staccano quasi più vescicole del Golgi e cessa l'emissione di nuovo secreto. L'eliminazione di questo veleno respiratorio permette la ripresa della secrezione, che ben presto ritorna ai livelli normali: da ogni dittiosoma possono (nuovamente) liberarsi fino a 3 vescicole al minuto! Si possono raccogliere quantità di questo secreto viscoso sufficienti per l'analisi chimica. È costituito da idrati di carbonio, che sono zuccheri a basso peso molecolare e da sostanze simili a zuccheri che vengono "polimerizzate" in macromolecole, le quali sotto questa forma sono poi emesse all'esterno. È stato dimostrato anche in altri casi che i dittiosomi fabbricano polisaccaridi. Nei sottili peli radicali della pianta di mais, essi producono la sostanza fondamentale della parete cellulare, detta emicellulosa, costituita da idrati di carbonio abbastanza simili al secreto per la cattura degli insetti. Vescicole del Golgi contenenti emicellulosa e particolarmente ben contrastate compaiono nelle figure a p. 173 e 174. Possiamo seguirne il percorso: migrano verso la punta in crescita della cellula, dove la parete cellulare si ispessisce, vi si addossano e poi finiscono col fondersi.

Anche nelle alghe silicee (Diatomee) si polimerizza nei dittiosomi una sostanza destinata alla loro parete, ma non è più emicellulosa, bensì acido silicico polimerizzato, che forma una corazza solida e duratura



Sezione di una cellula muscolare cardiaca, questa volta eseguita però parallelamente alle fibrille muscolari. Le fibrille, chiare con striature longitudinali e trasversali, si alternano regolarmente con file scure di mitocondri.



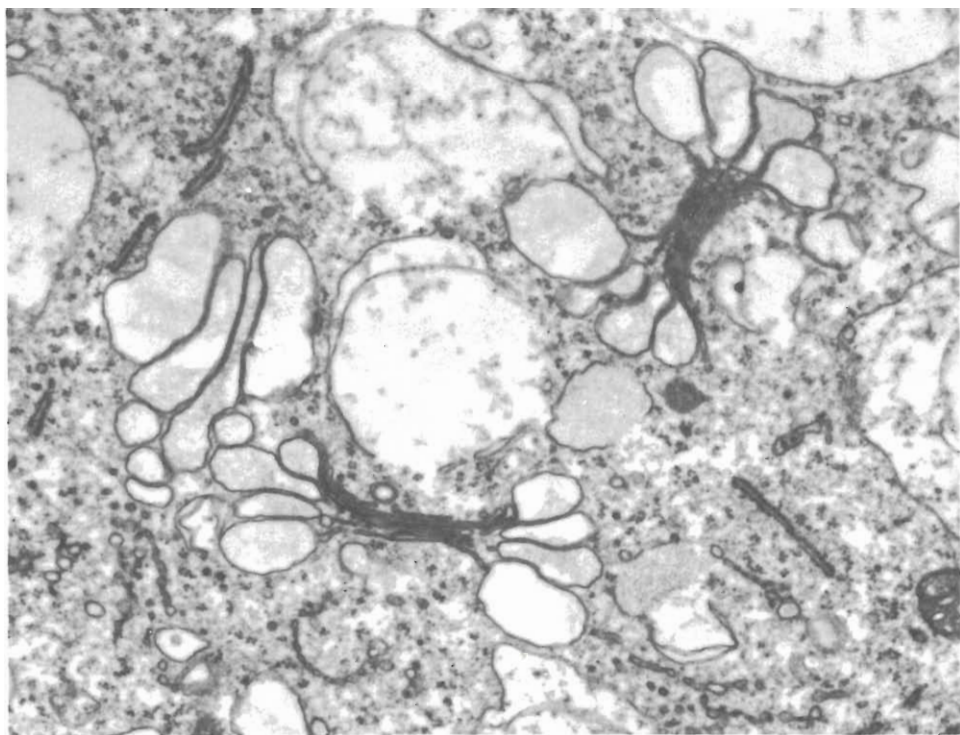
Schema tridimensionale delle colonne di mitocondri e dei fasci di fibrille in una cellula muscolare cardiaca, ricostruito da una serie di sezioni contigue.

per quest'alga unicellulare. In altre cellule, sempre ghiandolari, i dittiosomi producono olii eterici, come ad esempio nella menta. I dittiosomi sono quindi abbastanza versatili nel produrre sostanze di natura diversa; sembrano solo incapaci di produrre certi tipi di secreti: quelli proteici o enzimatici, come ad esempio quelli delle ghiandole salivari o del pancreas.

Fin qui abbiamo parlato quasi esclusivamente di cellule ghiandolari, ma ciò non significa che queste siano la sola sede dei dittiosomi. Anzi, sembra che non esistano cellule del tutto prive di dittiosomi, anche se non svolgono attività secretoria. In que-

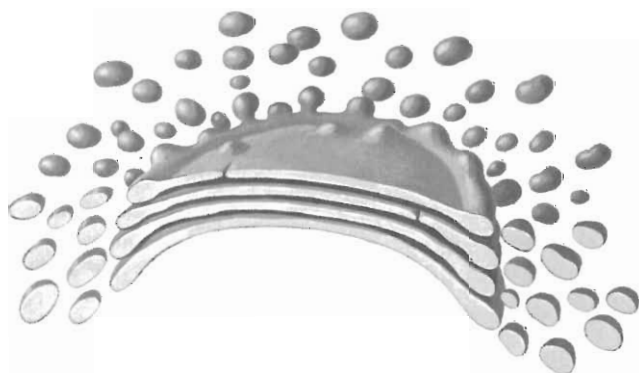
sti casi la loro funzione non è ancora spiegata, ma può darsi che le ricerche sulla parete cellulare che si forma dopo una divisione del nucleo (*vedi* p. 194) permettano un passo avanti.

Infine segnaliamo che le membrane che avvolgono le cisterne e le vescicole del Golgi sono sempre membrane elementari di composizione e di spessore noti. Lo spessore delle cisterne a forma di disco normalmente si aggira tra 0,2 e 1,2 μ , ed è quindi al limite del potere di risoluzione del microscopio ottico: ciò spiega le incertezze dei primi reperti sull'apparato del Golgi classico.



Dittiosomi (a destra ed in basso) nell'epidermide di una radice di pianta di mais.

ricostruzione di un dittiosoma con numerosi vacuoli del Golgi distaccati alla periferia.



.10 Entrate e uscite al microscopio elettronico

Pinocitosi ed estrusione

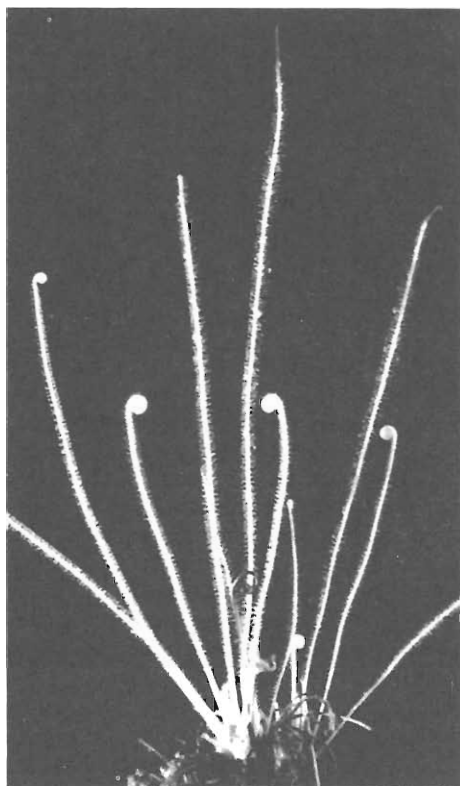
Nai dittiosomi possiamo ricavare ancora altre nozioni; è sufficiente seguire con attenzione in che modo il loro contenuto, cioè la sostanza che deve essere secreta, abbandoni la cellula. Abbiamo detto che le vescicole del Golgi possiedono una membrana elementare. D'altronde anche il corpo cellulare è delimitato all'esterno da una membrana elementare, il plasmalemma. Quando una vescicola del Golgi, nel suo spostamento verso la superficie della cellula, viene a contatto con la membrana elementare esterna, le due membrane si fondono, in modo da lasciar comparire un "foro" nel punto di contatto (vedi figura a p. 176). La vescicola finisce col rimanere appesa internamente al plasmalemma come un piccolo recipiente sferico la cui apertura, praticata attraverso il plasmalemma, lo mette in comunicazione con "l'esterno". Col contrarsi progressivo di questo recipiente, il suo contenuto cola al di fuori della cellula (quando non è addirittura premuto fuori). Ben presto si osserva soltanto più un piccolo infossamento che a sua volta scompare. Della vescicola del Golgi non rimane traccia: il suo contenuto ha abbandonato la cellula (nel caso dell'emicellulosa del pelo radicale esso si fonde con

la parete cellulare in via di formazione).

Solo di rado le microfotografie elettroniche sono chiare come lo schema descritto (vedi figura a p. 177), ed ancor più di rado si possono classificare come immagini dell'"eliminazione di sostanza verso l'esterno", detta anche estrusione. Tutto ciò ha le sue buone ragioni, e per questo il titolo del presente paragrafo è stato suggerito dalla terminologia del bilancio economico. Infatti tutto il procedimento può anche essere descritto in direzione opposta: il plasmalemma della superficie cellulare si introflette, questo incavo si ingrandisce prendendo la forma di un piccolo sacchetto sferico ("invaginazione"), la sferetta si stacca per strozzamento della membrana e migra sotto forma di vacuolo verso l'interno della cellula. La cellula ha ingoiato un "sorso"; di qui il nome di "pinocitosi" (dal greco *pinèin* = bere), attribuito al processo.

Pare quasi accertato che la cellula, almeno finché non possiede una parete cellulare solida, può assumere in questo modo acqua. La grande difficoltà sta nel dedurre dalla fotografia se un'immagine d'invaginazione della membrana rappresenti la fine di una estrusione o il principio di un processo di pinocitosi.

Ciò che è valido per l'acqua sembra valere anche generalmente per le sostanze disciolte, ma non per tutte. Sali di potassio e di



Drosera lusitanicum, affine alla *Drosera* nostrana, con numerosi sottili tentacoli.

sodio, per esempio, possono addirittura suscitare la pinocitosi; lo stesso succede con certe macromolecole, come quelle della gelatina, della ribonucleasi (che incontreremo quando tratteremo delle molecole della memoria) e delle gammaglobuline (che hanno funzioni importanti in biologia immunitaria; vedi p. 241). Altre macromolecole invece non sono assunte con pinocitosi e, caso strano, a questa categoria appartengono gli idrati di carbonio e gli acidi nucleinici. La pinocitosi ci serve per risolvere, o almeno per comprendere meglio, due problemi di fronte ai quali, ancora trent'anni fa, i fisiologi si stringevano nelle spalle:

1. la penetrazione di molecole nelle cellule attraverso una pellicola bimolecolare di lipoidi, ossia una membrana elementare, che è impermeabile nei loro confronti;

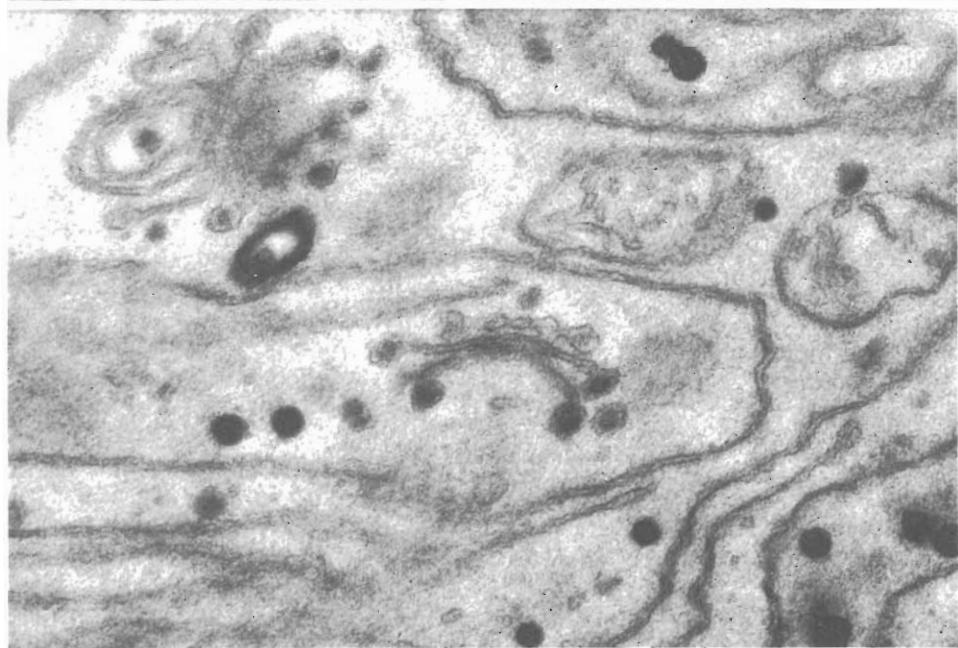
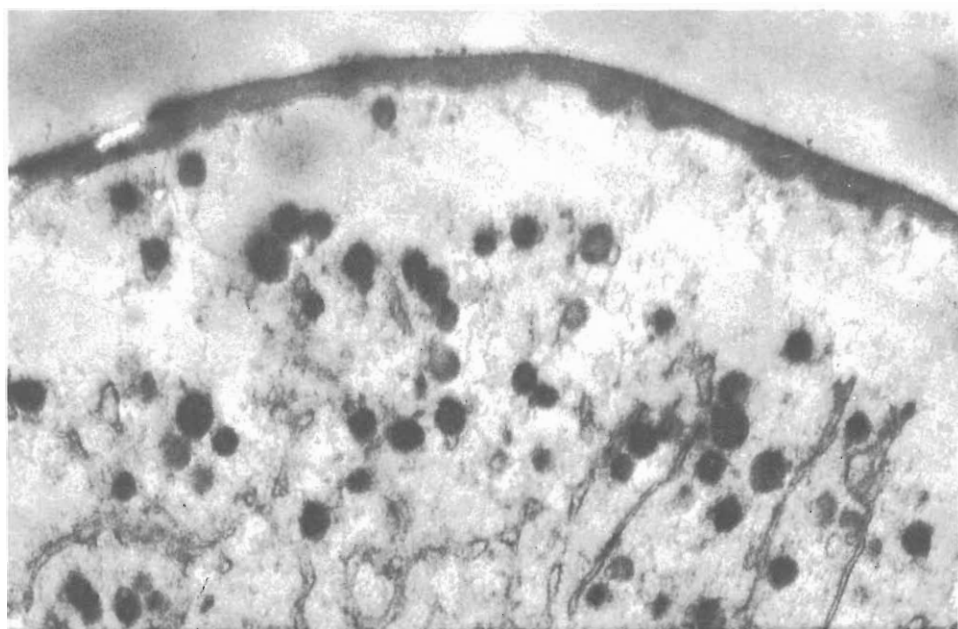
2. l'assunzione "attiva" di molte sostanze con consumo di energia da parte della cellula. È noto da tempo, ad esempio, che i sali penetrano nella cellula solo quando la respirazione è intatta. Se è bloccata ("disgiunta") l'assunzione di sali cessa. Oggi esistono numerose ipotesi non dimostrate sull'introduzione attiva di sostanze nella cellula; la pinocitosi, che certamente non può attuarsi senza consumo di energia, è un modello che può essere ritenuto valido almeno in alcuni casi.

Ci possiamo chiedere se la pinocitosi sia un evento raro oppure se invece serva a introdurre sostanze nella cellula in quantità degne di nota. Non si può generalizzare la risposta. Notiamo tuttavia che amebe affamate (le quali non possiedono una parete cellulare solida, ma solo una membrana), nello spazio di due ore introducono fino al 30-40 % del proprio volume di una soluzione di globulina all'1 %: è un notevole risultato.

Ma soffermiamoci ancora un momento sulle sostanze in soluzione. Nel caso della ribonucleasi (peso molecolare 13.000) e soprattutto in quello delle gammaglobuline (peso molecolare 160.000, talvolta persino 1 milione) si può anche pensare che le loro molecole non si sciolgano realmente, come invece avviene col sale di cucina (NaCl, peso molecolare 58) o con l'alcool ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, peso molecolare 46). Tuttavia esse vengono ugualmente introdotte. Ma non è tutto: molte cellule assumono, "divorano", molecole ancora più grosse o addirittura particelle solide che certamente non possono essere disciolte, ma solo mantenute in sospensione. L'assunzione di particelle solide è detta "fagocitosi" (dal greco *faghèin* = divorare). È nota da molto tempo perché si può osser-



Apice di un pelo radicale di mais. Numerose vescicole del Golgi, scure, formatesi all'interno della cellula, migrano verso la punta in crescita.



Sotto: dittiosomi con vescicole del Golgi scure distaccate o che stanno per distaccarsi. Sopra: le vescicole si addossano alla parete cellulare in via di formazione e in essa si perdono.

varla al microscopio ottico. Fondamentalmente la fagocitosi si svolge come la pinocitosi: invaginazione, distacco dal plasmalemma, migrazione verso l'interno della cellula. Le dimensioni di queste bollicine sono però notevolmente superiori a quelle delle vescicole del Golgi. Si sono dimostrate particolarmente adatte all'esperimento delle sferette non digeribili di sostanze artificiali (polistirolo, diametro 2.200 Å).

Abbiamo detto: non digeribili, e questo termine introduce l'ultimo argomento del paragrafo. Che cosa succede alla bollicina della pinocitosi nell'interno della cellula? È poco probabile che le bollicine della pinocitosi e della fagocitosi seguano alla rovescia esattamente tutto il processo di estrusione, ed in particolare che si fondano con le cisterne del Golgi nei dittiosomi. Esse invece giacciono più o meno a lungo all'interno della cellula. Se contengono soltanto acqua, la cedono poco alla volta al plasma fondamentale circostante; alla fine, la membrana elementare che la conteneva si disfà. La stessa cosa succede alle sostanze a basso peso molecolare, che possono servire come materiale da costruzione o come nutrimento alla cellula. Le molecole più grosse, invece, se sono presenti i necessari enzimi, sono demolite e digerite, e con esse talvolta anche la membrana elementare che le circonda. Dalle particelle solide sono estratte le sostanze utilizzabili, mentre quelle non digeribili rimangono nella bollicina. A questo punto inizia un'inversione di rotta: interviene un processo di estrusione che elimina all'esterno gli avanzi (vedi figura a p. 177 in basso).

Un caso particolare da non dimenticare è quello in cui le bollicine, se contengono acqua e sostanze disciolte, non si soffermano nel "citoplasma intermedio", ma si dirigono fino al vacuolo centrale, ossia la zona del succo cellulare, qualora esista, fondendosi. Ma, non avendo finora parlato di vacuoli, tratteremo di questo caso particolare nel prossimo paragrafo.

3.11 Vacuoli

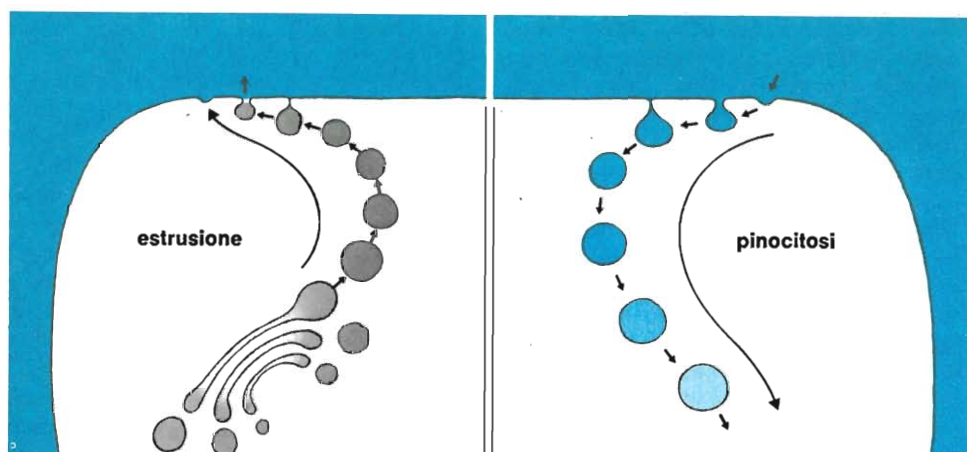
Inturgidiscono la cellula e raccolgono le scorie

I vacuoli non fanno parte del corredo inalienabile di tutte le cellule, come i corpuscoli, le vescicole e gli organelli fin qui descritti. Compaiono esclusivamente in cellule vegetali adulte e differenziate, nelle quali però sono talmente appariscenti ed importanti, che non possiamo passarli sotto silenzio.

Chi ha potuto osservare al microscopio una sezione di tessuto vegetale vivo — ad esempio di una squama di cipolla — sa che all'interno della cellula compare un enorme vacuolo. Talvolta occupa fino al 90 % del volume cellulare; quindi tutto il citoplasma, compreso il nucleo e le varie formazioni presenti, è pigiato contro la parete della cellula e compare soltanto più come sottile strato plasmatico intorno al vacuolo stesso. Questo "vacuolo centrale" non possiede strutture particolari, è otticamente vuoto; inciso, lascia fuoriuscire acqua (quasi pura).

È assai difficile preparare cellule con simili vacuoli per l'osservazione al microscopio elettronico. Durante la fissazione, al limite tra il plasma denso e il vacuolo molto più fluido, si producono quasi sempre tensioni e lacerazioni, che rendono rare le belle immagini di vacuoli. Bene o non bene conservato, il liquido, o meglio lo spazio che prima della fissazione conteneva il liquido, si dimostra praticamente vuoto anche al microscopio elettronico.

Un'eccezione compare in una delle più recenti microfotografie elettroniche (figura a p. 179). Qui il succo cellulare non è costituito da acqua quasi pura, ma contiene una gran quantità di ossalato di calcio, cristallizzato per l'alta concentrazione. I cristalli sono numerosi e rigorosamente paralleli. Nella figura sono stati tagliati trasversalmente alla perfezione e senza che si scheggiassero. Ma i cristalli di ossalato sono for-



Rappresentazione schematica del processo di estrusione con vescicole del Golgi che emettono il loro contenuto intorno alla cellula, e del processo di pinocitosi.

mazioni particolari che assolutamente non compaiono in tutte le cellule vegetali; l'immagine non è stata riprodotta per illustrarli, ma per mostrare la superficie limite tra vacuolo e plasma intermedio, che qui appare ottimamente conservata, confermando di essere una membrana elementare, esattamente come il plasmalemma.

Con la terminologia odierna cadiamo nuovamente in contraddizioni e in imprecisioni storiche. All'inizio tutto il vacuolo, compresa la sua membrana, fu battezzato con il nome di *tonoplasto* (da Hugo de Vries nel 1885). Ma una certa trascuratezza fa sì che oggi la maggioranza degli studiosi, col termine di tonoplasto, intenda riferirsi solo all'involucro del vacuolo. Di conseguenza, tonoplasto e plasmalemma sarebbero fratelli: il plasmalemma delimita il plasma intermedio dall'ambiente esterno alla cellula, il tonoplasto dal vacuolo centrale.

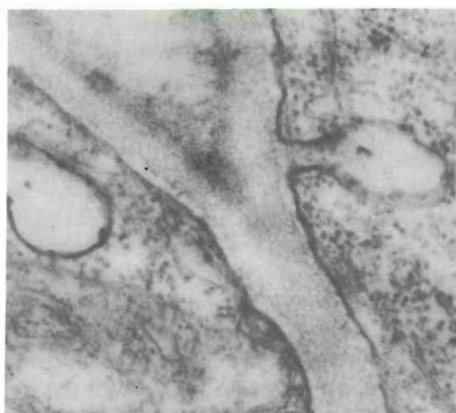
A suo tempo tuttavia il termine di tonoplasto non era stato scelto a caso, ma serviva a precisare:

1. che si tratta di una struttura avente forma propria (dal greco *plastos* = formato), cioè quella di un organello cellulare;

2. che questo organello provoca il tono cellulare.

"Tono" significa tensione. Fisiologicamente parlando, si riferisce alla tensione dei muscoli, dei vasi, dei tessuti, delle cellule. I tonoplasti sono responsabili della tensione nelle cellule vegetali. Molti vegetali non possiedono un sistema di sostegno, come la corazzina degli insetti o lo scheletro dei vertebrati e dell'uomo. Le piante possono supplirvi rinforzando la parete esterna delle cellule, come avviene nel legno e nel guscio delle nocchie (il quale poi è particolarmente duro, ed è costituito da cellule morte). Ma l'ispessimento delle pareti cellulari ed il depositarsi di sostanze legnose o di sughero porta con sé svantaggi: le pareti cellulari spesse rendono più difficili gli scambi tra cellule ed assorbono luce. Tutto ciò sarebbe oltremodo dannoso, per esempio alle foglie, che producono zuccheri e amido partendo dall'acqua e dall'anidride carbonica proprio con l'aiuto della luce.

Le cellule delle foglie — e tante altre ancora — sono mantenute rigide (turgesciute) dai tonoplasti. Esse assumono acqua, offer-

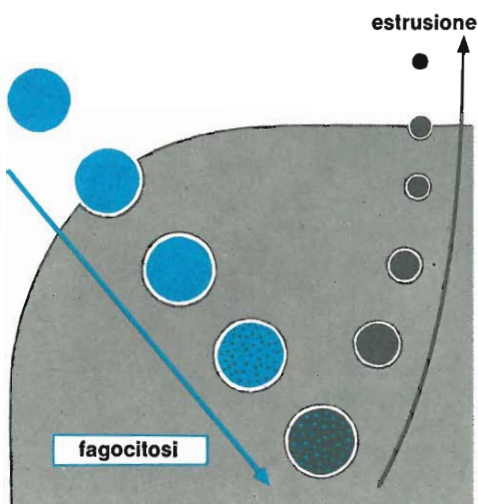


Infossamento (invaginazione) alla superficie cellulare. È l'inizio di una pinocitosi o la fine di un processo di estrusione. Microfotografia elettronica.

La loro da un sistema di vasi acquiferi, secondo le leggi dell'osmosi, sulle quali non è il caso di soffermarsi in questa sede. Il loro volume aumenta con quello dei tonoplasti, e lo strato di plasma che circonda questi ultimi, venendo schiacciato contro la parete cellulare, le trasmette una pressione e la distende. Essendo la parete elastica, questo processo si protrae per un certo tempo. Ma quanto più essa viene distesa, tanto più aumentano le forze che tendono a farle riprendere le dimensioni iniziali. In questo modo la parete cellulare rimane sotto tensione, la quale — perdurando l'aumento di volume del tonoplasto — aumenta al punto da opporsi con successo alla tendenza dei tonoplasti di assumere altra acqua. Si stabilisce un equilibrio tra la pressione esercitata dalla parete verso l'interno e quella esercitata dai tonoplasti verso l'esterno (turgore). Le opposte pressioni rendono tutta la cellula rigida e fanno interrompere l'assunzione d'acqua.

Ognuno sa che cosa succeda in caso contrario. Se ad una pianta manca l'acqua, anche i vacuoli ne ricevono troppo poca, il turgore diminuisce, le pareti cellulari per-

dono la loro tensione e le foglie, o talvolta anche tutta la pianta, si afflosciano. Se altra acqua non viene fornita tempestivamente, la pianta appassisce. Se ne arguisce che, almeno per molte cellule vegetali, la pre-



Introduzione di particelle solide nella cellula: fagocitosi. Tutto quanto è digeribile viene digerito, mentre l'avanzo inutilizzato è rigurgitato all'esterno con un processo di estrusione.

senza di vacuoli o tonoplasti ha importanza vitale.

I tonoplasti e le bollicine della pinocitosi, secondo l'ultra-struttura riconoscibile al microscopio elettronico, sono strettamente imparentati. Sia gli uni sia le altre contengono acqua e sostanze eventualmente disciolte in questa, come sali o composti organici, e sono circondati da una membrana elementare. Questa parentela è confermata dal processo descritto alla fine del paragrafo precedente, in cui le bollicine della pinocitosi, distaccatesi dal plasmalemma e passate attraverso lo strato intermedio di plasma, versano il loro contenuto nel vacuolo centrale (vedi figura sotto).

Con molta probabilità il tonoplasto, oltre a provocare e mantenere il turgore delle cellule, svolge anche altre funzioni. Ad esempio la colorazione rossa o azzurra di molti fiori e il color rosso del faggio sanguigno sono dovuti a sostanze coloranti sciolte in forti quantità nei vacuoli. (Sono le antocianine — dal greco *anthòs* = fiore e *kianos* = azzurro — composti organici di costituzione assai complicata, che possono variare il proprio colore secondo il contenuto di

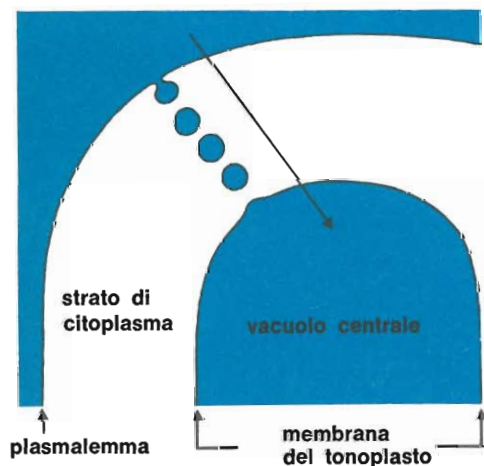
sali della soluzione in cui sono disciolti. D'altra parte il colore vistoso delle foglie del faggio sanguigno, particolarmente intenso nel periodo giovanile, non deve essere confuso con la colorazione gialla o rossiccia delle foglie d'autunno, che è provocata da coloranti di tutt'altra natura che non risiedono neppure nei vacuoli. Per maggiori precisazioni, vedi p. 184.) Sovente nel liquido dei vacuoli sono disciolte sostanze generate durante il ricambio cellulare, e che non possono più essere utilizzate, come tannino, amari, eccetera. Perciò molti autori considerano i vacuoli luoghi di deposito per le scorie, necessari alle piante che non possiedono, come gli animali, un sistema di escrezione. Sono però solo supposizioni difficilmente dimostrabili, almeno con il microscopio elettronico.

3.12 I cloroplasti

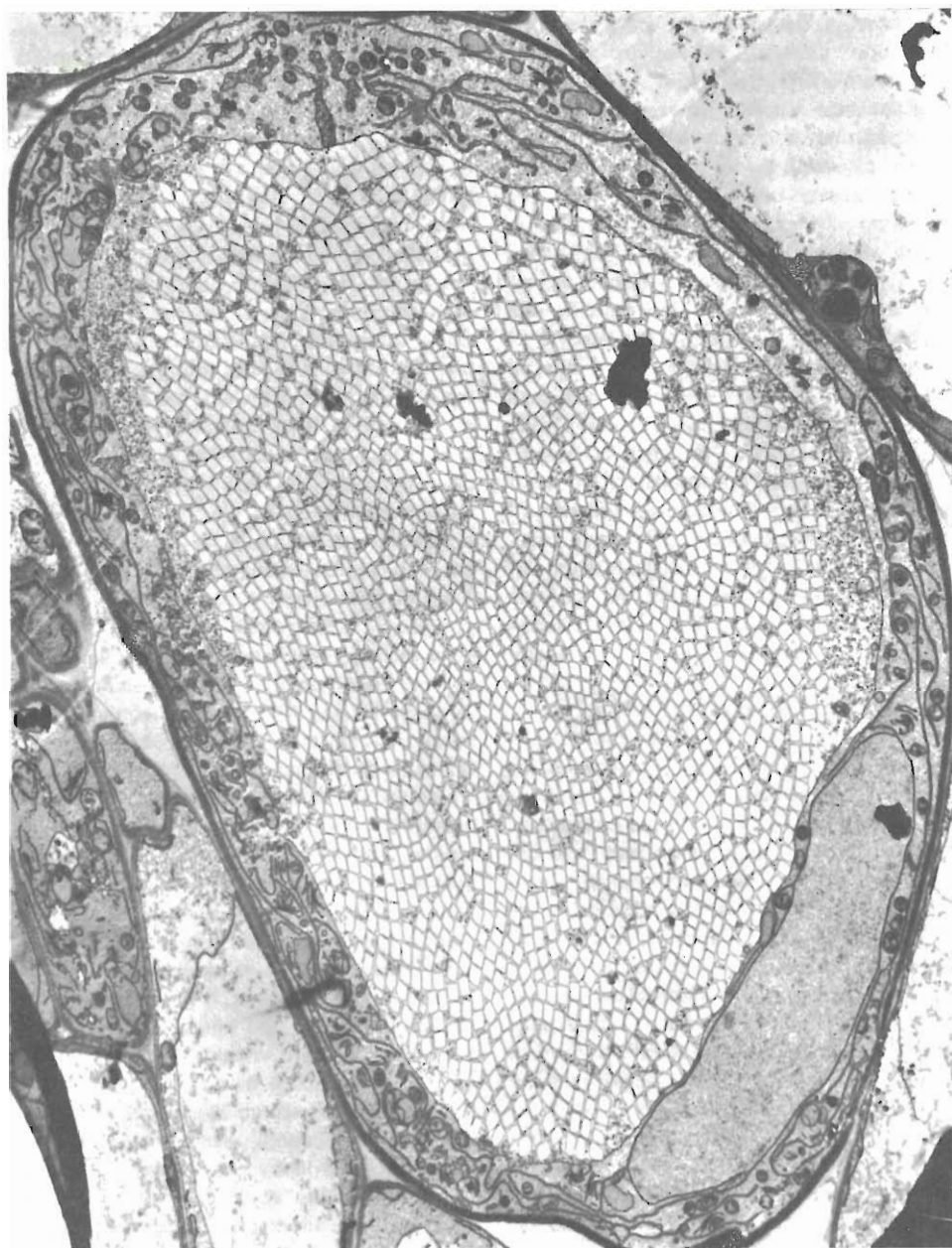
Produttori di carburante per le centrali

Osservando più attentamente le cellule vegetali, notiamo ancora un altro tipo speciale di organello cellulare che va assolutamente preso in considerazione. Bisogna precisare che non compare in tutte le cellule vegetali, ma solo nelle cellule verdi. La sua importanza però va ben oltre i limiti del regno vegetale e riguarda tutti gli esseri viventi. È il "cloroplasto", o granulo di clorofilla⁴ (dal greco *chloros* = verde, *tyllon* = foglia). Si dice clorofilla il pigmento verde presente nelle foglie e contenuto nei cloroplasti, i quali, con l'aiuto di questa sostanza colorata che assorbe l'energia dei raggi solari, ed a causa della loro caratteristica struttura interna, sintetizzano, partendo dall'acqua e dall'anidride carbonica, il glucosio, sostanza organica di cui non solo si nutrono le piante ma quasi tutti gli organismi della Terra.

Questo processo, senza il quale non esisterebbe probabilmente la vita sulla Terra, è detto fotosintesi. Ancor oggi si parla talvolta



Con la pinocitosi si può effettuare un trasporto d'acqua dall'ambiente al vacuolo centrale.



Cellula adulta con grande vacuolo centrale. Il plasma con nucleo, mitocondri, reticolo endoplasmatico, ecc. compare solo più come strato sottile compreso tra il vacuolo e la parete cellulare. Il vacuolo in questo caso è stipato di aghi cristallini di ossalato di calcio sezionati trasversalmente. Al limite tra vacuolo e plasma si osserva che la membrana del tonoplasto è elementare.

di processo di assimilazione, ma è un termine troppo generico. Assimilare significa "equiparare", "rendere simile", cioè trasformare sostanze estranee in sostanze proprie dell'organismo: e ciò avviene con i materiali più disparati. Esiste anche, ad esempio, un'assimilazione dell'azoto. Tutt'al più oggi dovremmo parlare di un processo di assimilazione dell'anidride carbonica. Ma anche questa espressione è ancora troppo imprecisa, perché per l'assimilazione del CO_2 , che è "privo d'energia", occorre un apporto di energia (vedi a p. 164). Si dovrebbe dire, in modo troppo prolisso, che nei cloroplasti avviene "l'assimilazione del CO_2 con l'aiuto di energia luminosa". Più breve ed appropriato è il termine "fotosintesi". (Una serie di organismi inferiori riesce ugualmente ad attuare l'assimilazione del CO_2 senza bisogno di energia luminosa ed usufruendo invece dell'energia proveniente da speciali processi chimici; questo tipo di assimilazione del CO_2 è chiamato perciò "chemiosintesi".)

Lo sguardo dentro la cellula che diamo in questo capitolo con il microscopio elettronico non servirà certamente a chiarire la fotosintesi⁵, ma in ogni caso è utile per approfondire la struttura intima dei cloroplasti. Preferiamo rinviare per il momento l'uso dei grossi calibri e limitarci dapprima al microscopio ottico. I cloroplasti infatti, per la loro dimensione, sono facilmente visibili al microscopio ottico; nelle cellule dei vegetali superiori assumono una forma relativamente costante, lenticolare o a disco, con diametro generalmente di 5 μ . Soltanto di rado la cellula ne possiede uno solo (in qualche muschio); normalmente sono 10 o 20 o anche più, se si tratta del corredo di una cellula "assimilante".

Sovente i cloroplasti delle alghe differiscono di forma e di numero; a volte troviamo un unico cromatoforo (dal greco, *chromos* = colore, *ferin* = portare) largo ed appiattito, altre volte dei protoplasti nastriformi, a clava, reticolati o lobati. Li citiamo solo per in-

ciso e senza scendere in particolari, per dimostrare ancora una volta l'immensa varietà di forme del mondo vivente. Noi ci occuperemo solo dei cloroplasti delle fanerogame. Dal microscopio ottico non si ricava molto di più, ad eccezione dei *grani*, descritti sin dal 1883. Visti di piatto i cloroplasti sovente non appaiono di colore verde diffuso, ma granuloso, con particelle verdi (dette grani) sparse in una sostanza fondamentale (stroma). Dapprima non si sapeva esattamente come interpretare questi grani; qualche ricercatore pensava addirittura che non si trattasse di strutture reali, ma di artefatti o di prodotti di disaggregazione. Passarono 50 anni prima che fossero riscoperti; poco dopo comparvero le prime fotografie al microscopio elettronico.

Veramente, al microscopio elettronico offrono — di piatto — un'immagine che non ha nulla di specialmente vistoso (vedi figura a p. 183). Si notano delle zone più scure, dal contorno approssimativamente circolare, che corrispondono bene, nelle dimensioni, ai grani osservati con il microscopio ottico. Sono certamente gli stessi, ma compaiono delimitati in modo stranamente impreciso. Non troviamo più le lamelle distinte, le membrane elementari, i ribosomi, eccetera, così nettamente riconoscibili nelle immagini al microscopio elettronico. Ancora più confuse sono le zone comprese tra i grani, che appaiono come un traliccio o una rete perforata da pori più o meno grandi. È tutto quanto si può scorgere, e a dire il vero assomiglia tanto ad una alterazione. Gli scettici hanno davvero ragione a considerare i grani come prodotti di disaggregazione?

Se tuttavia osserviamo il cloroplasto sezionato trasversalmente, ossia *perpendicolarmente* alle sue facce più estese, e guardiamo per così dire di coltello nel suo interno, ci appare allora un'immagine completamente diversa. Ricompaiono lamelle e membrane elementari, questa volta più addensate che in qualsiasi altro organello cellulare finora considerato, più ravvicinate an-

cora che nelle cisterne del reticolo endoplasmatico (*vedi* figura a p. 151).

Da un'attenta osservazione si deduce che:
1. tutto il cloroplasto è racchiuso in un involucro: si tratta di una doppia membrana elementare, costituita da due membrane elementari come nei mitocondri;

2. questo involucro delimita una sostanza fondamentale, detta "stroma", finemente granulosa e senza altre particolarità;

3. nello stroma compaiono diversi grossi granuli (S), "bianchi" ed amorfi; si tratta dei granuli d'amido, chiari testimoni di un'attiva fotosintesi, perché il glucosio, prodotto nella fotosintesi, è subito trasformato in amido insolubile (*vedi* figura p. 184);

4. lo stroma è solcato da numerose "lamelle" che possono attraversare il cloroplasto da una parte all'altra, o terminare liberamente nello stroma. È importante notare che queste lamelle compaiono sempre a coppie, e che all'estremità di ogni coppia si congiungono continuandosi l'una nell'altra. Delimitano così una cisterna, in questo caso particolarmente appiattita, ma identica in ogni altro particolare alle cisterne del reticolo endoplasmatico o del Golgi, tanto più che ogni lamella è chiaramente costituita da una membrana elementare. Sovente a queste cisterne estremamente sottili, ed alle membrane elementari che sopra e sotto le delimitano, si dà il nome di "tilacoide" (che in greco significa simile a sacco). I tilacoidi sono sovente raggruppati, e si estendono allora parallelamente per un certo tratto;

5. in alcuni punti, tra i tilacoidi che si estendono attraverso tutto lo stroma e che sono detti anche tilacoidi dello stroma, compaiono tilacoidi più corti (in G, nella figura stessa), generalmente in grande quantità, molto addensati e sovrapposti l'uno sull'altro. In questi ammassi il numero delle membrane elementari è naturalmente molto alto, ed il preparato è particolarmente denso. Se cerchiamo una corrispondenza tra la figura a p. 184 e quella a p. 183 (che rappresenta un

cloroplasto visto di piatto), appare chiaro che le pile di tilacoidi corti frammiste ai tilacoidi ad ampia superficie della figura a p. 184 sono proprio i grani, in questo caso, però, visti di fianco. La superficie di questi tilacoidi corti, o "tilacoidi dei grani" è dunque rotonda come indica la figura a p. 183. Siccome poi sono messi in pila come monete (quindi l'espressione ufficiale è quella di struttura "a rotolo di monete"), il grano che ne deriva appare molto compatto. Tuttavia questi tilacoidi non hanno dimensioni sempre esattamente identiche come le monete, perciò il contorno di queste pile di elementi sovrapposti non è mai netto come quello di ogni singolo tilacoide. Inoltre se pensiamo che queste pile sono talvolta attraversate da lamelle estese a tutto lo stroma, comprendiamo facilmente come mai le immagini dei grani visti di piatto siano così "sfumate" (*vedi* le due figure a p. 185).

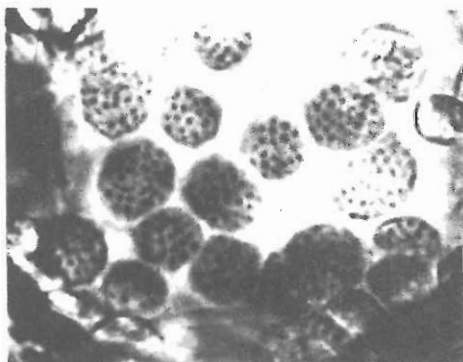
Le lamelle dei tilacoidi dello stroma sono talvolta ancora collegate all'involucro del cloroplasto. Si ammette che almeno alcune di esse siano derivate da quest'ultimo, quali escrescenze verso l'interno della sua membrana elementare interna, come avviene nel caso dei tubuli o delle creste dei mitocondri, e che solo successivamente si perda questo collegamento. Lo scopo è evidentemente di aumentare la superficie interna come nei mitocondri.

Ma donde derivano i tilacoidi dei grani? All'inizio si pensava che la loro formazione in determinati punti fosse provocata da un fattore ignoto, semplicemente mediante raddoppiamento delle membrane elementari e distacco per delaminazione dai tilacoidi dello stroma. Oggi si è di parere diverso. I tilacoidi dello stroma non attraversano il cloroplasto come superfici continue, ma sono invece sinuosi e perforati da pori grandi e piccoli. Inoltre sui lati si formano espansioni lobate, quasi rotonde, com'è indicato nelle figure schematiche a p. 185. I lobi suddetti sorgono numerosi in punti vicini e si spostano l'uno sull'altro in modo da far coinci-

dere all'incirca i loro contorni. Questa rappresentazione dei fatti ha il vantaggio di spiegarci abbastanza bene l'immagine del cloroplasto visto di piatto (a p. 183).

In qualunque modo si formino i grani, è evidente che si è ottenuto un enorme aumento della superficie interna. Ma a quale scopo? Certamente non per captare più luce, perché in tal caso i tilacoidi dei grani non sarebbero posti uno dietro all'altro, ma uno di fianco all'altro. Tuttavia potrebbe realmente esserci qualche relazione con la clorofilla. Se si fanno crescere delle piante al buio, si sa che non diventano verdi e che rimangono pallide e giallastre. Nei loro cloroplasti esistono davvero dei precursori della clorofilla, ma gli ultimi passi della sintesi si svolgono solo in presenza di luce. Queste foglie e questi steli non possiedono nelle cellule veri cloroplasti, ma solo precursori di cloroplasti, detti "proplastidi" (vedi a p. 188), i quali sono quasi completamente privi di tilacoidi. Con l'esposizione alla luce si forma clorofilla e contemporaneamente compaiono anche i tilacoidi.

Tutto fa pensare che il pigmento fogliare si trovi nei tilacoidi stessi, nelle loro membrane elementari o nelle cisterne. A sostegno di questa tesi sta anche l'osservazione che gli ammassi che formano i grani e che



Cloroplasti al microscopio ottico con i grani ben evidenti.

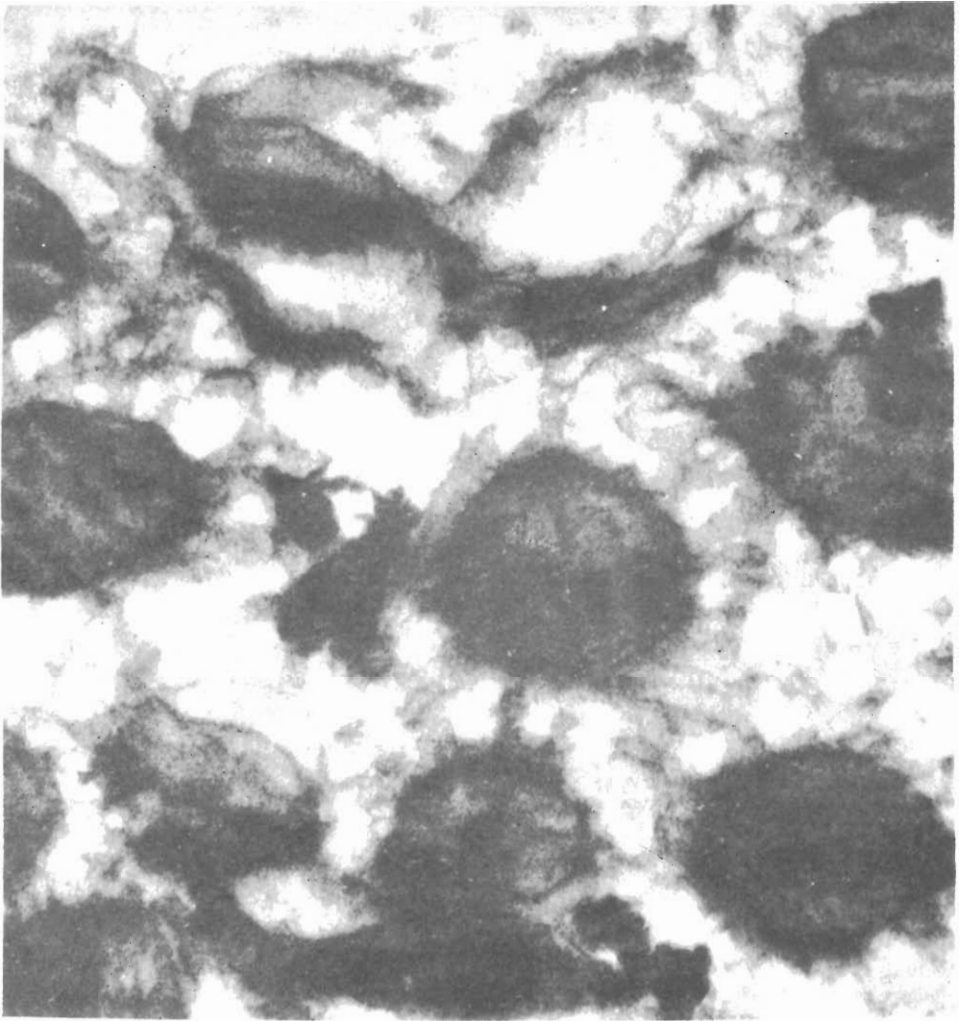
al microscopio elettronico appaiono scuri (vedi figura a p. 183) sono identici ai grani verdi visibili al microscopio ottico. Queste conclusioni non sono però ancora dimostrate; e neppure lo sono i risultati di certi calcoli, più volte eseguiti, con i quali si è cercato di mettere in rapporto la superficie complessiva delle membrane dei tilacoidi, ricavata da microfotografie elettroniche, con il posto che occuperebbero le molecole di clorofilla contenute in un cloroplasto — il numero delle quali può essere calcolato con una formula nota da tempo — se fossero disposte ordinatamente una vicino all'altra. È sorprendente notare che i due dati corrispondono. Ma sono calcoli incerti, specialmente se si tiene conto che:

1. la clorofilla in realtà compare in due forme, la a e la b, le quali differiscono per una breve catena laterale e sono in proporzione diversa da oggetto ad oggetto;

2. oltre alla clorofilla sono sempre presenti altre sostanze colorate gialle o giallo-rosse di diversa costituzione chimica, dette "carotenoidi" (la radice a fittone della carota ne contiene in grandi quantità).

Perciò una dimostrazione irrefutabile che il pigmento dei cloroplasti risiede nei tilacoidi non esiste ancora, neppure il microscopio elettronico può fornirla, poiché non vi si possono distinguere i colori ed identificare le singole molecole, ad eccezione di qualche raro caso.

Tuttavia oggi nessuno dubita più che questa supposizione sia esatta. Naturalmente però esistono almeno una dozzina di ipotesi su come e dove si dispongano queste molecole di sostanze colorate. Probabilmente sono situate al limite tra la pellicola bimolecolare lipidica ed i due strati proteici disposti dalle due parti; si potrebbe dedurlo già soltanto dal fatto che la molecola di clorofilla possiede un'estremità idrofila ed una idrofoba (il comportamento dei carotenoidi, quasi esclusivamente idrofobi, potrebbe essere diverso). È sicuro però che le molecole di pigmento sono disposte parallelamente e

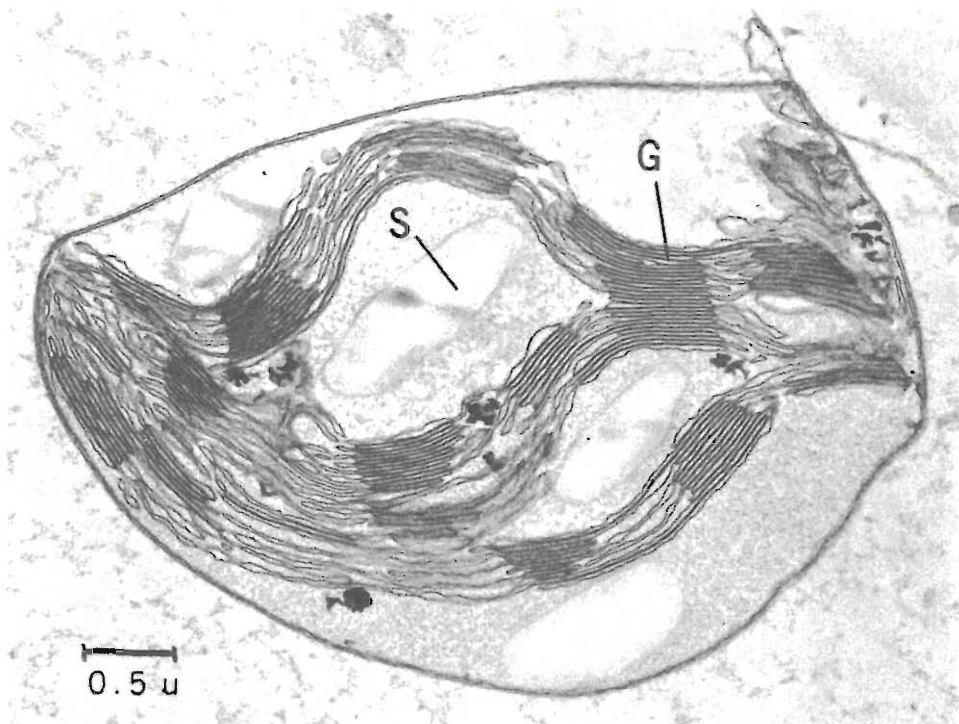


Sezione di cloroplasto visto di piatto al microscopio elettronico. Le zone scure corrispondono ai grani. Sono a contorni mal delimitati tanto quanto lo stroma reticolato interposto.

con ordine preciso, come le molecole fosfatidiche nelle pellicole di lipoidi. Anche questo è dedotto da misurazioni fisiche e non da osservazioni al microscopio elettronico. Inoltre non è ancora chiaro perché i carotenoidi siano necessari alla fotosintesi, alla quale non sembrano partecipare attivamente:

probabilmente assorbono essi pure energia luminosa, che però non utilizzano direttamente ma cedono alla clorofilla. È notevole che i carotenoidi gialli e rossi assorbano proprio quei colori della luce che le clorofille verdi non possono raccogliere.

Normalmente la quantità presente di carote-



Cloroplasto sezionato trasversalmente. Si riconoscono: l'involucro del cloroplasto, i tilacoidi, gli ammassi formanti i grani (in G una struttura a "roto di moneta"). S = granulo d'amido.

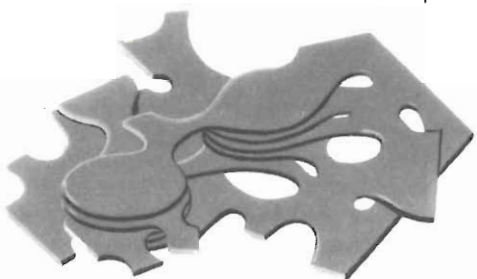
noidi è inferiore a quella delle clorofille, che in pratica li sommergono. Nei nostri climi in autunno la situazione cambia in molte piante nelle quali le foglie, prima di cadere, ingialliscono; non si tratta di un ingiallimento della clorofilla, la quale in realtà viene demolita, bensì della comparsa dei carotenoidi, fino allora nascosti dalla clorofilla ed ora diventati visibili. La demolizione della clorofilla avviene perché ogni sua molecola contiene un atomo di magnesio e diversi atomi d'azoto, due elementi che scarseggiano. (Questo è vero solo per le piante, mentre il corpo degli animali contiene generalmente azoto in abbondanza, che elimina giornalmente in grandi quantità sotto forma di urea.) I carotenoidi sono invece idrati di

carbonio, composti quasi unicamente da C e da H, elementi che la pianta può procurarsi sempre in misura sufficiente.

Avendo citato alcuni dati sulla composizione chimica dei cloroplasti, approfittiamo dell'occasione per aggiungere che essi contengono anche piccole quantità di RNA e, in misura minore, di DNA, e persino ribosomi; viene quindi confermata nei cloroplasti una sintesi proteica abbastanza vivace.

Nonostante tutto dobbiamo ammettere di non avere ancora un'idea esatta di quanto avvenga nei plastidi. Col microscopio elettronico, conosciamo bene la loro struttura elementare, sappiamo che questa struttura è un elemento determinante per la fotosintesi, ma rimarremo ancora per un certo tem-

so all'oscuro sulla correlazione ultima tra struttura e funzione. Per poterla scoprire saranno necessari metodi ancora più sottili. Così la speranza di fabbricare uno strumento per la fotosintesi con tilacoidi artificiali, partendo da clorofilla, carotenoidi, lipoidi e proteine, dapprima in laboratorio ed in seguito su larga scala, rimarrà ancora a lungo insoddisfatta. Questo non è un motivo sufficiente per rinunciare all'impresa, anzi è sprone ad aumentare l'impegno. La soddisfazione di potere un giorno sollevare improvvisamente l'umanità da ogni preoccupazione alimentare giustifica qualsiasi sforzo.



Formazione (ipotetica) di grani mediante l'ammassarsi con sovrapposizione di lobi laterali dei tilacoidi dello stroma aventi superficie irregolare. Queste espansioni lobate dei tilacoidi dello stroma hanno superficie quasi rotonda e si spostano sovrapponendosi (da Wehrmeyer).

3.13 Seguono con distacco...

Componenti che occorre ancora studiare

È forse utile uno sguardo retrospettivo, per non perdere di vista l'insieme. Conosciamo ora importanti componenti cellulari: il nucleo, i mitocondri, i cloroplasti, i ditirosomi, i ribosomi ed il reticolo endoplasmatico, ciascuno dotato di struttura caratteristica anche se non sempre completamente chiarita. Sappiamo inoltre che l'elemento comune a questi componenti cellulari è sovente una membrana elementare, che li avvolge, o che partecipa alla loro intima costituzione. D'al-

tronde possiamo attribuire loro funzioni diverse e per lo più esclusive:

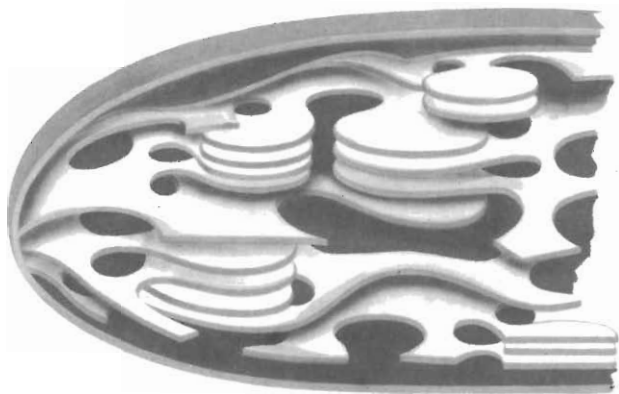
i ribosomi sono sede di sintesi proteiche;
il reticolo endoplasmatico serve anche al trasporto di sostanze;

i mitocondri provvedono alla respirazione cellulare;

i ditirosomi sintetizzano sostanze per la formazione della parete cellulare;

i cloroplasti sono sede della fotosintesi;
il nucleo è il portatore dell'informazione genetica.

Quantunque talvolta esistano interferenze (la sintesi proteica non avviene solo nei ribosomi disposti intorno alle membrane del reti-



Ricostruzione plastica di un frammento di cloroplasto.

colo endoplasmatico, ma anche nei cloroplasti), nondimeno possiamo in prima approssimazione stabilire che alla suddivisione del lavoro corrisponde nella cellula una distribuzione topografica delle reazioni, ossia che la cellula è suddivisa in diversi settori, in strutture che presiedono a funzioni diverse. Si parla sovente di "scompartimenti" cellulari.

Tuttavia, sintesi proteica, trasporto, respirazione, fotosintesi, ereditarietà e produzione di secreti sono funzioni importanti, ma non comprendono certamente tutte le manifestazioni vitali. Anche se teniamo presente che compiti differenti possono talvolta essere svolti da uno stesso componente cellulare a noi noto, rimangono ancora sempre tante funzioni di cui non conosciamo la microstruttura elettronica corrispondente ("correlata"). Ma è davvero obbligatorio che esista? Se con questo intento esaminiamo diversi tipi di cellule, troviamo evidentemente tutta una schiera di altre strutture: bollicine, granuli, lamelle singole o raggruppate, strutture fibrose, inclusioni di goccioline, ecc., le quali variano nella forma e nella composizione, talvolta mancano del tutto, ed infine sono difficilmente caratterizzabili. Quando si è creduto che queste particelle comparissero regolarmente e fossero sede di particolari funzioni, si è dato loro un nome: "lisosomi", "fragmosomi", "quantosomi" e così via. Ma in questo campo l'indagine microscopica elettronica è ancora in pieno sviluppo ed ogni collegamento con la fisiologia per il momento rimane solo un proposito. È troppo presto per trarre conclusioni; lasciamo agli specialisti le animate discussioni attualmente in corso sull'argomento.

È probabile che i citati lisosomi abbiano presto un posto stabile nel quadro della cellula; meritano quindi un cenno particolare. Se ancora una volta consideriamo l'attività svolta dai componenti cellulari fin qui descritti, vediamo che generalmente essa riguarda processi costruttivi, come:

produzione di idrati di carbonio (fotosintesi);

sintesi proteica;

sintesi di sostanze per la parete cellulare e di secrezioni per la cattura, eccetera.

Fanno eccezione i mitocondri che demoliscono il glucosio. Ma non bisogna credere che lo scopo della respirazione sia limitato alla demolizione degli idrati di carbonio: questa scissione degli idrati di carbonio avviene per ottenere ATP, che è frutto della sintesi di ADP + fosfato. Quindi si potrebbe senz'altro interpretare l'attività dei mitocondri come sintesi dell'ATP.

Ma è chiaro fin dall'inizio che l'attività vitale non può consistere soltanto di una ininterrotta sintesi, bensì è il risultato di un equilibrio finemente regolato (e costantemente ricostituito) tra costruzione e demolizione, in cui enzimi a tendenza contraria si contrastano o almeno si tengono pronti ad intervenire. Esistono molti enzimi demolitori, tra i quali sono particolarmente importanti le "fosfatasi". Sono enzimi che scindono l'acido fosforico da composti fosforilati, e non si fermano neppure di fronte all'ATP: sotto la forma di adenosintrifosfatasi scindono l'ATP in ADP e fosfato libero. Evidentemente simili enzimi litici (disgregatori) devono essere tenuti sotto controllo, perché non disturbino sconsideratamente i processi di costruzione. Secondo ogni parvenza sono generalmente mantenuti isolati in speciali vescicole, i lisosomi; questi liberano i propri enzimi solo in particolari condizioni, che sono determinate dal grado raggiunto dai processi di sintesi. Questo riconferma che struttura e funzione sono in strettissima correlazione.

Alle relazioni finora conosciute si aggiunge una nuova complicazione, cioè il reciproco influenzamento dei diversi componenti strutturati. Si era sempre ricercata la regolazione del sistema complessivo della cellula nell'azione delle catene enzimatiche (di cui si parlerà nel prossimo capitolo); ma ora emergono indizi che anche le varie strutture

elementari possono regolarsi a vicenda; questo è un nuovo settore della ricerca, che la scienza si appresta a studiare a fondo. Prima di tentare una ricostruzione della cellula usando i suoi singoli componenti, dovremmo dare uno sguardo alla "sostanza o plasma fondamentale". Abbiamo parlato di un reticolo endoplasmatico che si estende tutta la cellula con un sistema di canali, le cui membrane separano una fase interna alle cisterne da una fase esterna alle cisterne. Alla fase esterna appartengono i ribosomi, i mitocondri, i plastidi, il nucleo, ecc., i quali non sono schiacciati alla rinfusa uno contro l'altro, ma separati da interstizi riconoscibili persino nelle cellule del muscolo del cuore della figura a p. 168), ed immersi proprio nel plasma fondamentale. Si potrebbe anche all'opposto definire il plasma fondamentale (detto anche matrice, ma non confondersi con la matrice dei mitocondri) come ciò che rimane dopo avere eliminato tutte le parti dotate di forma propria, dai ribosomi al reticolo endoplasmatico ed a tutti gli altri componenti cellulari. È evidente che all'epoca del microscopio ottico non era possibile ottenere immagini della struttura intima del plasma fondamentale; tutto quanto si sapeva in proposito era dedotto indirettamente. Il plasma fondamentale è, secondo ogni apparenza, liquido, ma meno di una soluzione acquosa: è più denso, più viscoso, all'incirca come una soluzione di gelatina. Si pensava che fosse formato di piccolissimi granuli (struttura granulare) oppure da fibre finissime (struttura fibrillare). I fisiologi avevano dimostrato che contiene proteine e molti enzimi solubili, cioè quelli non legati alle membrane elementari, come per esempio avviene invece nei mitocondri. Vi furono trovati specialmente quegli enzimi che elaborano il glucosio fino all'acido piruvico (*vedi* la glicolisi a p. 163).

Col microscopio elettronico, quanto succede con il nucleo succede purtroppo anche con il plasma fondamentale: non sono quasi mai

emerse strutture di cui si possa escludere con certezza un'origine dovuta ad artefatti di fissazione. Tra le migliori microfotografie elettroniche figurano quelle del prof. Wohlfarth-Bottermann, ottenute con il plasma fondamentale di amebe (figura a p. 190). Esse confermano — naturalmente al livello delle dimensioni del potere di risoluzione del microscopio elettronico — quanto i microscopisti d'una volta sostenevano: l'esistenza di strutture sia granulari sia fibrillari. Entrambe trapassano l'una nell'altra; forse le fibrille non sono altro che catene di granuli disposti in fila. Attualmente non si può dire di più. Nella ricostruzione della cellula dovremmo tralasciare la struttura intima della matrice o plasma fondamentale.

3.14 Montaggio di una cellula

Dopo l'analisi, la sintesi

Il montaggio della cellula non è naturalmente da prendere alla lettera. Anche se conosciamo ora le varie particelle che compongono la cellula, non sappiamo quante ne occorran di ogni qualità, ad eccezione del nucleo che è sempre unico. Potremmo esaminare una serie di sezioni, o una sezione sufficientemente grande da contenere una cellula intera e permettere di rintracciare i componenti ormai noti.

Ma è più presto detto che fatto. Una normale cellula adulta, come quelle considerate finora, è troppo grande per poter rimanere tutta nel campo visivo del microscopio elettronico; se ne scegliamo una particolarmente piccola, saremo sempre disturbati nell'osservazione dai fili del reticolo di sostegno, i quali fatalmente nasconderanno i particolari che ci interessano. Non stupisce quindi che le microfotografie elettroniche rappresentanti una cellula adulta completa siano rarissime.

Perciò non siamo totalmente liberi nella

scelta della cellula che intendiamo vedere nel suo insieme. È meglio limitarci in principio ad una giovane cellula vegetale non ancora perfettamente sviluppata (differenziata), anche se c'è il rischio che qualcuno degli elementi costituenti manchi o non sia interamente formato. La figura a p. 191 mostra una cellula simile proveniente da radice di mais.

Si nota certamente per prima una grande massa ovale in mezzo alla cellula. A causa della sua struttura intima granulare e confusa, possiamo identificarla senza difficoltà con il nucleo. Si sa che questo è delimitato da un involucro. In alcuni punti (in centro a destra nella figura) il suo nitido contorno continua nel sistema di lamelle del reticolo endoplasmatico. L'involucro è talvolta costituito da un solo, talvolta da due o anche da tre strati; in più punti si osserva che lo strato interno è perforato da pori nucleari. Il nucleo è circondato da una larga fascia di plasma fondamentale, delimitata a sua volta esternamente dalla parete cellulare (della quale dovremo occuparci più avanti). In primo luogo ci interessano le particelle con forma propria, ossia le vescicole, ecc., distribuite nel plasma fondamentale, il quale, naturalmente, non presenta una sua struttura particolare. I ditiisomi sono i più facili da rintracciare; non possono sfuggire le cisterne arcuate del Golgi e le vescicole del Golgi — così ben contrastate in questo caso — che da queste si staccano. Si vede una dozzina di questi ditiisomi, distribuiti abbastanza regolarmente nel plasma fondamentale della sezione.

Si riconosce anche facilmente il reticolo endoplasmatico, anche se le sue cisterne non sono così numerose e regolarmente disposte come nella figura a p. 148. Questo si estende intorno al nucleo con parecchie ramificazioni. Sarebbe difficile qui ricostruirne la forma complessiva, ma in questo caso non occorre neppure conoscerla.

È necessaria una precisazione riguardo al

reticolo endoplasmatico. Questo appare sovente con setti ravvicinati ed appaiati che simulano ciascuno una membrana elementare. Ma è un'illusione: questi setti non costituiscono le pareti delle cisterne, non delimitano cavità intracisternali, bensì terminano liberi nel plasma fondamentale. In alcuni punti si rileva che in realtà sono doppie membrane, all'interno delle quali si trovano cisterne del reticolo endoplasmatico estremamente sottili. Abbiamo la conferma che si tratta di doppie membrane osservando l'estremo limite del plasma fondamentale dove termina contro la parete cellulare. Qui esiste una linea scura formata dal plasmalemma, che circonda tutta la cellula. Ma il plasmalemma, che è costituito da una membrana elementare, dovrà apparire — e in realtà appare — di uno spessore almeno dimezzato rispetto alle due membrane estremamente ravvicinate del reticolo endoplasmatico, le quali formano i setti suddetti.

Le altre particelle sono un po' più difficili da interpretare. Alcune di esse, una ventina circa, sono certamente mitocondri; il loro involucro è ben visibile, mentre le creste interne sono evidentemente ancora allo stadio iniziale. I cloroplasti sembrano mancare completamente. Non c'è però da stupirsi in una cellula di radice che non è esposta alla luce, e che non può quindi sintetizzare clorofilla e produrre tilacoidi e grani. Invece di veri cloroplasti con i loro grani, qui si notano solo dei precursori, "proplastidi". Se ne vedono alcuni nella parte superiore della cellula, con contorno irregolare ma con involucro ben formato dal quale spuntano singoli tilacoidi. A questo stadio si riconosce ancora la connessione dei tilacoidi con l'involucro, la quale poi si perderà con la raggiunta maturità. Tuttavia nella radice di mais i proplastidi non diventano cloroplasti, ma organi di riserva dell'amido detti "leucoplasti".

I ribosomi si vedono male, a causa probabilmente della fissazione usata, che era destinata alla conservazione delle membrane

elementari (il che, di regola, va a scapito dell'integrità dei ribosomi).

Non si vede neppure il vacuolo centrale, perché la cellula è ancora troppo giovane. Nel complesso le nostre aspettative non sono state deluse: siamo riusciti a trovare nella cellula intera tutti quegli organelli cellulari che abbiamo descritto singolarmente in precedenza, valutandone ora in prima approssimazione quantità e rapporti. Ma abbiamo dovuto ammettere che in una cellula giovane alcuni organelli non sono ancora completamente formati e non esplicano ancora tutte le loro funzioni. Ora ci chiediamo quale sia l'aspetto di una cellula adulta.

La risposta non può essere universalmente valida per tutte le cellule. Quelle giovani in generale si assomigliano molto, ma più tardi, nel corso della loro vita, prendono una propria via e si sviluppano (differenziano) in direzioni diverse. Al termine del loro sviluppo devono necessariamente avere una struttura completamente diversa da quella iniziale, essendo mutate anche le loro funzioni. Una cellula nervosa non può quasi più essere confrontata — per struttura e per funzionamento — con una cellula connettivale o con una cellula del parenchima vegetale adibito alla fotosintesi.

Se volessimo descrivere tutti i tipi di cellule — e ne esistono a centinaia — ci occorrerebbero volumi interi: ma il nostro intento è di esporre solo alcuni principi della biologia moderna.

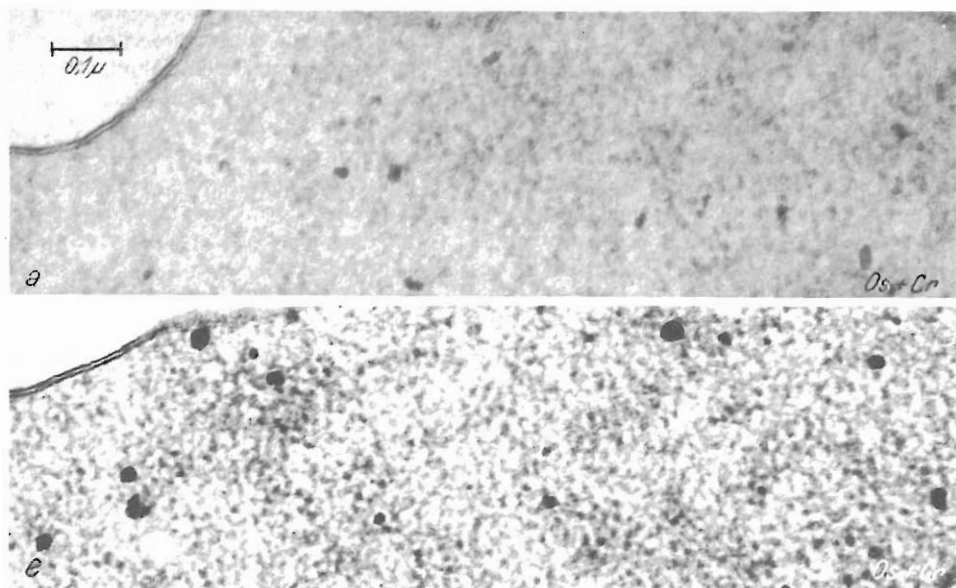
Siccome abbiamo citato il vacuolo centrale, o meglio il tonoplasto, come struttura caratteristica della cellula vegetale differenziata, ritorniamo alla figura di p. 179. In primo luogo precisiamo che l'aumento notevole di volume del vacuolo deve essere attribuito principalmente ad assunzione d'acqua. Il nucleo non cresce, o cambia di poco; il plasma fondamentale aumenta leggermente; i proplastidi si trasformano in cloroplasti aumentando di numero; lo stesso si può dire dei mitocondri (i cui precursori sono chiamati "promitocondri").

Il numero dei dittiosomi diminuisce quando la parete cellulare si è completata (fuorché la cellula sia destinata alla produzione di mucosità per la cattura d'insetti); così pure si riducono i ribosomi quando non occorre più la sintesi proteica. Al centro della cellula, dove nella cellula giovane risiedeva il nucleo, compare ora il grande vacuolo centrale che comprime tutto il resto in uno strato sottile di citoplasma parietale, talora ancora più sottile di quello che esisteva nella giovane cellula, tra membrana nucleare e parete cellulare (che manca, come già sappiamo, nelle cellule animali).

Ma dobbiamo ancora chiarire un importante particolare. Anche nelle cellule giovani sono presenti tutti gli organelli, anche se, in parte, sotto forma di precursori. Ma da dove provengono? È risaputo che un nucleo cellulare può solo derivare da un altro nucleo; ma che origine hanno i dittiosomi, i mitocondri, i cloroplasti? Derivano essi pure da organelli simili preesistenti, o possono formarsi ex novo?

Abbiamo intavolato un argomento scottante. Fino ad oggi è sempre stata considerata sicura la provenienza dei plastidi (cui appartengono, oltre ai cloroplasti, anche cromoplasti giallo-rossi e leucoplasti incolori) e dei mitocondri — formazioni considerate entrambe particolari, sui generis — da particelle simili preesistenti, proplastidi o promitocondri o forse anche precursori più semplici. Citiamo una sola delle molte prove a sostegno di questa tesi.

Se in occasione di una divisione cellulare, ambedue le cellule figlie devono ricevere lo stesso corredo di organelli, i promitocondri ed i proplastidi devono dividersi in sincronismo con il nucleo ed essere regolarmente distribuiti nelle due cellule figlie. Di solito lo svolgimento è davvero questo, senza che ancora oggi si sappia come avvenga. D'altra parte esistono casi in cui la divisione dei proplastidi si compie più lentamente di quella del nucleo. Con il succedersi delle divisioni cellulari, i proplastidi



Plasma fondamentale di amebe. Struttura fibrillare (in alto); granulosa (in basso).

finiscono con l'essere sempre meno numerosi nella cellula, si diradano, finché ne rimane uno solo. Se a questo punto avviene un'altra divisione, una sola delle due cellule figlie riceve l'unico proplastidio rimasto, e l'altra ne resta priva. Sarà senza cloroplasti per tutta la sua vita, e quindi senza colore, poiché altri organelli cellulari non possono essere trasformati in cloroplasti (lo stesso vale per i mitocondri). È proprio in questo modo che si formano le foglie "marmorizzate" o "screziate" di certe piante ornamentali.

Di recente è stata formulata una nuova ipotesi, fondata su reperti microscopico-elettronici, secondo i quali i precursori dei plastidi e dei mitocondri si staccerebbero sotto forma di piccole vescicole dal plasmalemma, come i vacuoli della pinocitosi ma con contenuto diverso. Da queste vescicole si formerebbero dapprima i proplastidi ed i promitocondri ed infine, con successivo perfezionamento, cloroplasti e mitocondri

veri e propri. Per quanto rischiose siano le conclusioni tratte da istantanee al microscopio elettronico su processi dinamici di sviluppo, e per di più così delicati, questa ipotesi non può essere scartata a priori. Oggi siamo ancora in mezzo a vivaci controversie; noi dobbiamo nuovamente abbandonare l'argomento in attesa dei risultati di altre ricerche (vedi figura a p. 194).

Per concludere ritorniamo ancora alla figura a p. 191 ed osserviamone la parete cellulare che finora abbiamo davvero trascurata. Essa racchiude completamente il corpo cellulare, e non lascia scorgere alcuna intima struttura particolare. Invece in alcuni punti, ad esempio in basso a destra, sembra che budelli di reticolo endoplasmatico, appartenenti a cellule vicine, si dirigano verso il medesimo punto della parete, l'attraversino e prendano contatto tra di loro. Conviene esaminare con maggiore attenzione questa parete cellulare e gli eventuali collegamenti plasmatici che contiene.



Giovane cellula di radice di mais. Al centro il nucleo molto grande. Fra nucleo e parete cellulare, citoplasma con tratti di reticolo endoplasmatico, dittiosomi, proplastidi e promitocondri.

3.15 La parete cellulare

Lo scheletro della cellula vegetale

Osserviamo subito un'immagine (figura a p. 196) concernente questa volta una sezione trasversale di parete cellulare, ad ingrandimento maggiore delle figure precedenti. La parete è al centro, a destra ed a sinistra sono le due cellule che separa. Sofferamoci dapprima su queste cellule: alla loro superficie e direttamente accostato alla parete cellulare appare il plasmalemma, con l'aspetto di un orlo assai fine (membrana elementare), il quale delimita il plasma fondamentale granuloso dalla parete. Immerse nel plasma fondamentale osserviamo le ormai note cisterne del reticolo endoplasmatico, distese, appiattite e quasi parallele alla parete cellulare. Tuttavia in parecchi punti esse si piegano bruscamente dirigendosi verso la parete. Si vede anche un tratto di ER appartenente ad una delle cellule, collegato attraverso la parete ad una cisterna vescicolosa della cellula vicina. In generale invece i rami dell'ER sembrano terminare contro la parete. È tuttavia sorprendente che — come succede almeno in un punto — le estremità di due rami dell'ER appartenenti a cellule contigue stiano esattamente una di fronte all'altra, e che in quel punto stesso la parete cellulare, normalmente senza strutture interne, sia scurita lungo il tratto di congiunzione. Il collegamento tra due cisterne di cellule vicine non avviene mediante budelli appiattiti, ma mediante tubicini filiformi (dove il nome di "plasmodesmi", dal greco *desmos* = filo); quindi è un caso se, facendo le fettine, questi vengono sezionati in senso esattamente longitudinale; per lo più rimarranno compresi nello spessore della fettina e visibili in trasparenza con contorni incerti attraverso la parete cellulare come sulla microfotografia.

Non è assolutamente una novità che cellule vicine prendano contatto. Anche con il microscopio ottico si può osservare che le

pareti cellulari sono perforate da grossi pori detti "punteggiature". Per molto tempo si è pensato che le cellule vicine fossero soltanto a contatto, in contiguità, attraverso queste punteggiature, con i loro plasmalemmi accostati ed integri, in modo da conservare intatta l'individualità delle singole cellule. Questa opinione deve essere corretta. Il reticolo endoplasmatico di cellule vicine è in diretto collegamento attraverso i pori e continuo da una cellula all'altra: si potrebbe quasi sostenere che in un tessuto centinaia di cellule possiedono un unico reticolo endoplasmatico in comune. Può darsi che questa affermazione sia eccessiva, per ché non sappiamo se tutte le cisterne dell'ER di una cellula siano collegate fra di loro; forse esistono parti dell'ER temporaneamente o costantemente "disinserite". Comunque sia, non ci sono ormai più dubbi che tra cellula e cellula possa avvenire uno scambio di sostanze, senza che queste debbano superare per due volte un plasmalemma.

Esclusi i canalicoli dell'ER, la parete cellulare appare al microscopio elettronico otticamente vuota, il che stupisce. Ai tempi del microscopio ottico si sapeva già che la parete cellulare non è un corpo di costituzione perfettamente uniforme ed omogenea, come una lastra di vetro. Certi reperti di natura fisica potevano solo essere interpretati considerando la parete cellulare un corpo composto, formato da unità allungate, disposte parallelamente ed immerse in una massa fondamentale. Queste unità elementari, dette "fibrille", non vanno intese come singole macromolecole allungate (ad esempio molecole di cellulosa), ma come fasci di molte molecole riunite. E se queste fibrille non compaiono al microscopio elettronico, vuol dire che non offrono il necessario contrasto. Si è perciò cercato di accentuarlo.

Il sistema di contrasto applicato consiste nell'uso di metalli pesanti (come si è già visto a p. 147), ma non sotto forma di soluzione salina di questi metalli, la quale in

un certo senso "colora" la fettina, bensì producendo vapori dei medesimi metalli e proiettandoli sul preparato con un certo angolo di incidenza. Questo metodo si dice di ombreggiatura (figura a p. 197).

Con i vapori di metallo si ottengono immagini in rilievo

Se trattassimo una superficie di sezione perfettamente liscia con vapori di metallo, si depositerebbe sempre e solo uno strato metallico di spessore regolare, che accentuerebbe la dispersione degli elettroni in modo uniforme, provocherebbe progressivamente una trasparenza sempre minore, e non metterebbe certo in risalto alcun nuovo contrasto. Ma succede diversamente quando la superficie è scabra: possiamo capirlo dalla figura a p. 197. Come struttura della superficie scegliamo un cilindro posto su di un sostegno piano e liscio. Se soffiando su questo cilindro un getto energico inclinato di vapori di metallo, questo si deposita davanti al cilindro e sulla sua faccia esposta, mentre quella "sotto vento" e la parte "in ombra" del sopporto non sono colpite. Solo i fasci di vapore che oltrepassano il cilindro sfiorandolo superiormente colpiscono ad una certa distanza il piano del sostegno e vi si depositano.

In un preparato così trattato, al microscopio elettronico le parti ricoperte di metallo, diventate opache per gli elettroni, compariranno scure sullo schermo luminoso, e non permetteranno che la lastra fotografica (il negativo) annerisca. Per contro, le parti non metallizzate del preparato lasceranno passare gli elettroni, appariranno chiare sullo schermo luminoso, ed in loro corrispondenza la lastra fotografica potrà annerire. Si ottengono in questo modo immagini ombreggiate che rendono perfettamente il rilievo, di cui è un esempio la figura a p. 47. I ribosomi che vi sono rappresentati sono stati resi visibili con il contrasto provocato

da una metallizzazione con vapori obliqua; si direbbe che siano illuminati da sinistra e che proiettino un'ombra. È chiaro che, dalla lunghezza di quest'ombra, conoscendo l'angolo d'incidenza dei vapori di metallo, si può calcolare l'altezza dell'oggetto in esame.

Le figure alle pp. 198 e 199 rappresentano pareti cellulari vegetali trattate in questo modo. Sono davvero di sorprendente chiarezza e bellezza. Vi vediamo le fibrille in rilievo e con tutta la nitidezza desiderabile. Il materiale utilizzato proviene da un'alga verde detta Valonia e non da una pianta superiore, ma abbiamo pure immagini simili, anche se non sempre così belle, di fanerogame. In ogni caso però sempre e solo le superfici naturali delle pareti cellulari (ripulite da ogni avanzo di contenuto cellulare) contrastano così bene, mai sezioni.

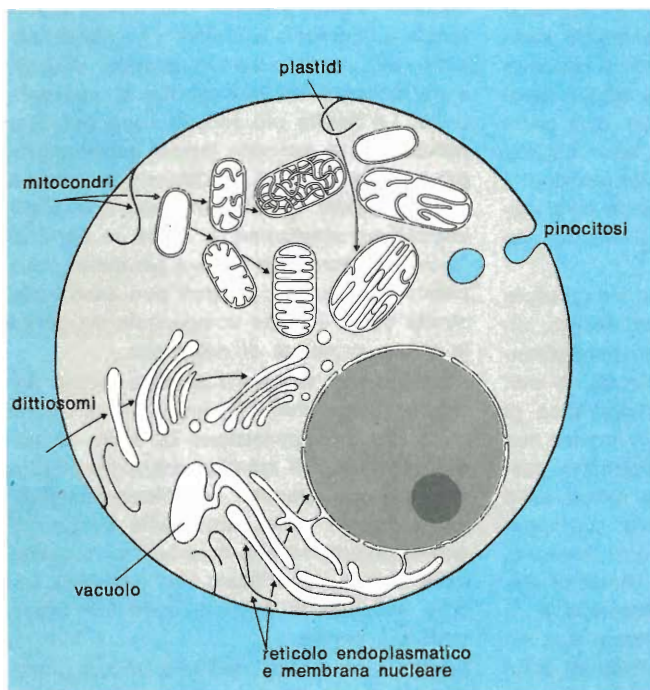
Ma ancora qualcos'altro colpisce in queste due immagini. La prima è di una parete cellulare molto giovane, con fibrille disordinate a "intreccio a strame". Le pareti cellulari più vecchie hanno aspetto diverso, sono ispessite dal sovrapporsi di nuove fibrille. Le fibrille più recenti sono parallele (talvolta, in un secondo tempo, anche quelle più vecchie possono riordinarsi); nei diversi strati possono variare direzione fino a diventare perpendicolari, e allora si parla di "intreccio incrociato a fibre parallele". Una parete cellulare a più strati può essere costruita come il legno compensato ed offrire le stesse proprietà di resistenza.

Abbiamo così seguito il divenire di una parete cellulare, che, sappiamo, non si riduce però alla sovrapposizione di strati secondari e terziari. In margine dobbiamo notare che possono prodursi un'infiltrazione di lignina (legno) nelle pareti delle cellule legnose, un'apposizione di suberina (sughero) nelle cellule suberificate, ed altri fatti ancora secondo le funzioni specifiche spettanti alle cellule.

Prima di terminare, vediamo ancora come si origina una parete cellulare. Occorre ri-

tornare di nuovo al secondo capitolo, alla telofase di una mitosi (vedi a p. 74). Avevamo detto che tra due cellule figlie, nel piano equatoriale, si producono formazioni simili a vescicolette che si fondono insieme formando una specie di setto o placca. Questa in un primo tempo è più o meno fluida, ma ben presto si rassoda e si estende fino alle vecchie pareti cellulari. Si assiste così alla nascita di una nuova parete cellulare. Intanto ricordiamoci della parete cellulare in crescita nei peli radicali (vedi a p. 174), in cui avveniva che vescicole del Golgi migravano verso la parete stessa e in essa si perdevano. Sono forse vescicole del Golgi quelle che si fondono per formare la placca? Osserviamo la figura a p. 201, che riproduce tre stadi successivi della formazione di una parete cellulare "primaria". Non si può dire che a sinistra ci sia una parete

continua, ma nella posizione in cui più tardi si estenderà la parete, si notano numerose vescicole, in parte isolate, in parte raggruppate in piccole catene ed in procinto di fondersi. Nella figura centrale la giovane parete è già completata, chiusa, ma vescicole fresche le migrano ancora incontro fondendosi. Infine nella figura a destra la parete primaria è ultimata (persino con plasmodesmi). Si può dimostrare che le vescicole descritte sono realmente vescicole del Golgi, distaccatesi per strozzamento dalle cisterne del Golgi dei dittiosomi. E questo concorda perfettamente col fatto che la parete primaria non è assolutamente costituita solo da cellulosa, ma in prevalenza dal polisaccaride pectina (la sostanza che rende gelatinose le marmellate). Soltanto la parete secondaria è formata dalla sovrapposizione successiva di fibrille cellulosiche, le



Attualmente si parla diffusamente di un'ipotesi secondo cui tutti gli organelli cellulari deriverebbero dal plasmalemma. Lo schema di cellula raffigurato riassume queste supposizioni in modo molto semplificato.

quali derivano da zone plasmatiche vicine alla parete stessa e di natura ancor oggi ignota, e non da vescicole del Golgi.

Questo è l'ultimo sguardo dato alla cellula con il microscopio elettronico, o meglio l'ultimo che ci è possibile dare, perché dobbiamo rinunciare ad illustrare in questo libro l'incredibile varietà di particolari, di strutture specializzate e di tipi cellulari esistenti. È già stato difficile impadronirsi di tutto ciò che è stato descritto e raffigurato, completamente nuovo o almeno inaspettato; si può immaginare quante difficoltà sarebbero sorte se avessimo ancora voluto accingerci allo studio delle cellule nervose o dei tubuli renali, di sezioni di flagello o di stadi di sviluppo in cui compaiono figure cristalline geometriche che all'improvviso diventano lamenelle o tilacoidi (e tutto ciò rappresenta solo una minima parte di quanto è stato scoperto nel frattempo!).

Sarebbe stata una fatica eccessiva, ma ci avrebbe riconfermato due fatti che dobbiamo per forza accettare.

Il primo non ci giunge nuovo. La cellula non è affatto un otricolo pieno di enzimi; è invece perfettamente organizzata in tutti i particolari e presenta un'architettura in cui

l'aspetto statico, pur meraviglioso, cede il passo alla mutevolezza ed alla subordinazione funzionale.

Il secondo può procurare una delusione. Adentrarci sottilmente nei principi costitutivi, spingerci fino alle dimensioni molecolari non è bastato — salvo poche eccezioni — a renderci visibili le "molecole dirigenti".

Su questo chiudiamo il capitolo per riaprirne un altro che tratterà degli aspetti funzionali, e precisamente dei meccanismi di regolazione. Si dimostrerà di nuovo, con altri mezzi ed in modo un po' bizzarro, che la cellula non è un semplice involto carico di enzimi. È evidente che l'attualità del tema risiede anche in altri motivi: in primo luogo nelle sue strette relazioni con discipline tecniche, quali la tecnica della regolazione; poi nell'osservazione che le informazioni immagazzinate sono ancora ben lontane dall'essere manifestate. Ma questo tema è anche attuale non solo perché tre scienziati di guida in questo settore — i professori Jacob, Monod e Lwoff — hanno ottenuto il premio Nobel (il seguente capitolo era però già stato scritto prima del conferimento), ma perché proprio nella cellula non si compie nulla che non sia pianificato con parsimonia, controllo e regolazione ininterrotta.

Prima di occuparci di microscopia elettronica può essere interessante soffermarsi brevemente sul microscopio ottico. Benché sembri che sin dall'antichità greca e romana fosse noto che oggetti trasparenti foggianti in forma lenticolare potenziano il potere risolutivo dell'occhio umano, i primi strumenti che si possano definire microscopi comparvero solo nel XVII secolo, in seguito all'invenzione del cannocchiale ed è quasi certo che i primi microscopi fossero telescopi, prima normali, poi di dimensioni ridotte, nei quali allontanando l'oculare dall'obiettivo si riuscivano a vedere immagini ingrandite di oggetti vicini.

I primi microscopi (di Galileo di Hooke e altri) erano strumenti del tutto rudimentali, consistenti in lenti semplici (con molte aberrazioni) sostenute da supporti di legno o di cartone, instabili e primitivi, per cui si preferiva far uso di semplici lenti convergenti (il cosiddetto microscopio semplice) che, se pur non agevoli da maneggiare, consentivano di effettuare eccellenti osservazioni. Questo stato di cose si protrasse sino al XIX secolo, allorché con

l'introduzione della "lente emisferica frontale" da parte di G. B. Amici, quindi con i miglioramenti apportati da E. Abbe, che teorizzò anche l'illuminazione degli oggetti, il microscopio (composto) divenne lo strumento principe dell'indagine minuta. Esso consta di un obiettivo e di un oculare generalmente coassiali, in cui l'obiettivo, che ha una distanza focale brevissima ed è collocato in modo da avere l'oggetto molto vicino al piano focale, dà all'oggetto un'immagine reale ingrandita e capovolta che viene ad essere vicina al piano focale dell'oculare. Questo, che è convenzionalmente una lupetta (lente positiva di circa 25 diottrie) ingrandisce ulteriormente l'immagine reale fornita dall'obiettivo, perciò in questo tipo di microscopio l'ingrandimento è dato dal prodotto dell'ingrandimento lineare trasversale dell'obiettivo per quello convenzionale dell'oculare.

Per un microscopio, più che la facoltà di ingrandire, è indispensabile la chiarezza dell'immagine ingrandita, ossia è indispensabile che consenta di vedere distinti due punti situati molto vicini. Que-



La parete cellulare, chiara e centrale, è attraversata da canalicoli del reticolo endoplasmatico, detti plasmodesmi. Addossato alla parete, da entrambe le parti, il plasmalemma (membrana elementare)

sta proprietà (detta potere risolutivo) è in relazione all'apertura dell'obiettivo e all'intensità della radiazione luminosa per cui per aumentare quest'ultima i microscopi sono muniti di condensatori ottici.

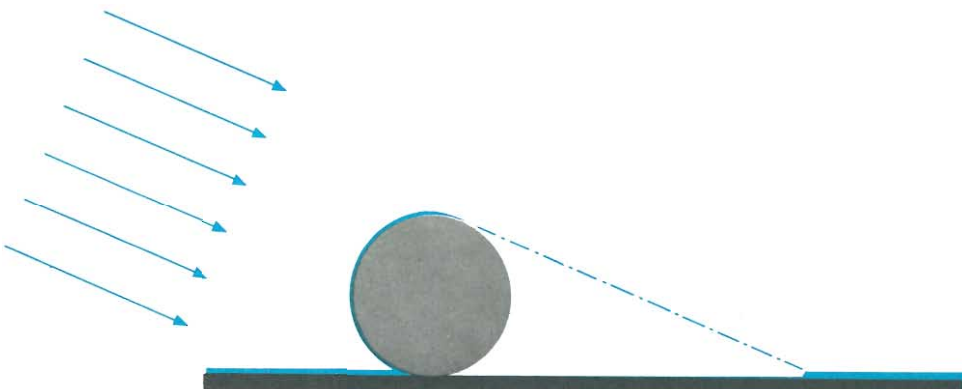
Attualmente oltre al microscopio ottico tradizionale che agisce sulla radiazione ottica normale trasmessa o riflessa dall'oggetto in osservazione, esistono altri tipi che utilizzano altre radiazioni, come luce ultravioletta, luce polarizzata, fasci di elettroni o di raggi X.

Nella pratica avviene spesso di sentir parlare di microscopi con nomi particolari conati in relazione agli scopi cui sono destinati, alle radiazioni utilizzate o ai fenomeni fisici cui si è ricorso. Il *microscopio a fluorescenza* è un normale microscopio in cui l'oggetto viene marcato con sostanze fluorescenti e viene poi illuminato con radiazioni ultraviolette che stimolano la fluorescenza. Il *microscopio a luce polarizzata* utilizza un fascio luminoso le cui vibrazioni (che sono perpendicolari alla direzione del fascio) avvengono in un piano ben determinato e fisso, detto di polarizzazione, contrariamente a quanto avviene per la luce naturale che si può considerare come composta essa pure da raggi polarizzati rettilineamente, ma il cui piano di polarizzazione subisce una variazione continua e rapidissima intorno all'asse di propagazione del raggio; esso è dotato di un apparecchio polarizzatore posto prima dell'oggetto e di un analizzatore che raccoglie la luce che ne emerge; è utilizzato per l'esame di sostanze anisotrope o birifrangenti. Il *microscopio a contrasto di fase* provvisto di una lamina, una zona della quale porta un sottilissimo strato trasparente capace di far cambiare la fase dei centri di onde diffratte che lo attraversano, consente di non colorare i preparati, quindi di effettuare osservazioni anche in vivo. Il *microscopio a interferenza* è anch'esso un microscopio ottico con aggiunta di accessori che sfruttano l'inomogeneità del preparato traducendole in figure di interferenza. L'*ultramicroscopio* infine consente di superare il li-

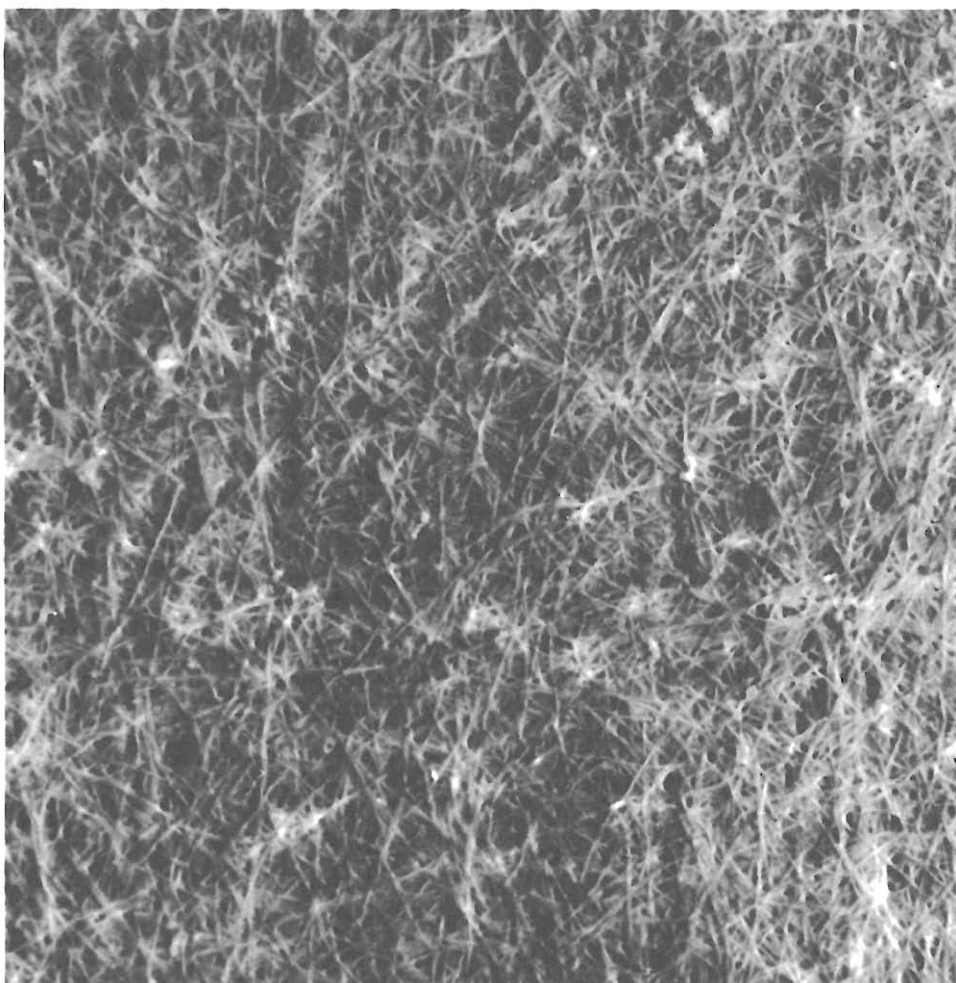
mite della risoluzione ottica grazie a un particolare condensatore che illumina intensamente l'oggetto senza mandare direttamente radiazioni nell'obiettivo. [N.d.R.]

² La respirazione è la funzione mediante la quale gli organismi viventi, con processi catabolici prevalentemente ossidativi, degradano sostanze organiche complesse in composti più semplici. Queste reazioni si svolgono con liberazione di energia che viene in parte accumulata nell'ATP e messa così a disposizione dell'organismo vivente per le sue funzioni vitali, come crescita, movimento, riproduzione, circolazione sanguigna, attività nervosa ecc.... Sono gli idrati di carbonio i composti che forniscono la maggior parte dell'energia. Questa funzione si compie nelle cellule e viene detta *respirazione interna*. Si distinguono una respirazione aerobia ed una anaerobia secondo che avvenga in presenza o in assenza di ossigeno. Gli animali, in maggioranza, hanno bisogno di ambienti ricchi di ossigeno molecolare, sono cioè *aerobii*, altri invece, come certi funghi, batteri o invertebrati che vivono nel fango o in ambienti poveri di ossigeno, come ad esempio i parassiti intestinali, effettuano la respirazione e le ossidazioni che l'accompagnano senza ossigeno, sono *anaerobii*.

Infatti un composto può essere ossidato in tre modi diversi: con aggiunta di ossigeno alla molecola (ossidazione dell'H ad acqua), con sottrazione di idrogeno alla molecola o, infine, anche con sottrazione di soli elettroni (ossidazione di un sale ferroso Fe^{++} in un sale ferrico Fe^{+++}). Il più delle volte l'ossidazione dei composti organici avviene per sottrazione di idrogeno, per deidrogenazione. D'altra parte facciamo notare che un composto che ne ossida un altro a sua volta si riduce, e viceversa. Negli organismi viventi questa reazione avviene per gradi, con l'intervento a catena di numerosi enzimi che catalizzano il passaggio dell'idrogeno dal metabolita all'ossigeno molecolare attraverso una serie di composti intermedi, formando nell'insieme



Rappresentazione schematica dell'ombreggiatura con metalli.



Giovane parete di cellula d'alga dopo metallizzazione obliqua della superficie interna. Intreccio a strame: le fibrille sono mescolate disordinatamente.

una *catena respiratoria*. Un gruppo importantissimo di questi *trasportatori di idrogeno* è costituito dai *citocromi*, contenenti ferro. Si possono immaginare come un gruppo di sostanze, facilmente ossidabili e riducibili, frapposto tra il metabolita da ossidare e l'ossigeno molecolare che verrà ridotto ad H_2O . Da un lato, il citocromo ossidato viene ridotto dal metabolita che si ossida cedendo H — reazione questa catalizzata da enzimi deidrasici —, dall'altro il citocromo ridotto si ossida cedendo l' H ricevuto dal metabolita all'ossigeno molecolare — rea-

zione questa catalizzata dalla citocromossidasi, identica all'enzima respiratorio di Warburg. Questo enzima, che è autossidabile in presenza di ossigeno, non ha bisogno di altri enzimi per riossidarsi dopo aver ossidato il citocromo. All'estremità della catena delle reazioni nella respirazione interna avviene perciò l'ossidazione del Fe^{++} dell'enzima respiratorio di Warburg ad Fe^{+++} per mezzo dell'ossigeno molecolare che diffonde dai capillari sanguigni nei tessuti.

Nel linguaggio comune per respirazione si intende



Parete cellulare più vecchia di identica provenienza. Intreccio incrociato a fibre parallele. Le fibrille hanno un decorso parallelo; in profondità la direzione delle fibrille ruota fino a 90°.

la funzione dei polmoni, o di altri organi analoghi, in collegamento al circolo sanguigno. In realtà questa respirazione, detta *esterna*, in contrapposto a quella *interna* cellulare, costituisce solo una fase del processo respiratorio, quella di trasporto dell'ossigeno dall'ambiente esterno ai tessuti e dell'anidride carbonica in senso inverso. [N.d.T.]

³ La maggior parte delle ricerche biochimiche relative alla contrazione muscolare sono state effettuate sui muscoli striati, ossia su quelli della muscola-

tura scheletrica, ma non pare che vi siano notevoli differenze tra i vari tipi muscolari.

Strutturalmente parlando, il muscolo striato consta di molte fibrocellule a loro volta costituite da migliaia di miofibrille che rappresentano l'unità strutturale e che sono formate da molecole filamentose di actina e miosina. L'osservazione microscopica rivela che la fibrocellula è percorsa da moltissime striature (bande) trasversali, alternativamente chiare e scure, come se fosse costituita da una serie di dischi (le striature infatti vengono chiamate anche

Scrutiamo la cellula

dischi) chiari e scuri sovrapposti l'uno all'altro. Questa diversità di colore è dovuta alla diversità dell'indice di rifrazione, maggiore nelle zone scure e minore in quelle chiare, a sua volta dovuto a diversità di composizione chimica: l'indice di rifrazione più elevato indica una maggior concentrazione di proteine, quello minore, unito alla birifrangenza, rivela la presenza di granuli submicroscopici disposti parallelamente all'asse maggiore della fibra.

La storia chimica della contrazione muscolare comincia all'inizio del secolo con il primo esperimento veramente importante, effettuato da Fletcher e Hopkins i quali dimostrarono che la contrazione muscolare è accompagnata da produzione di lattato in quantità più o meno considerevole. Essi prelevarono dalle due gambe di una rana i muscoli sartori, o i gemelli (un muscolo serviva per l'esperimento, l'altro come controllo) quindi stimolavano il muscolo su cui dovevano sperimentare facendolo contrarre in modo da svolgere una certa quantità di lavoro, immergevano entrambi i muscoli in alcool ghiacciato e li trituravano finemente con sabbia. Queste modalità, che potrebbero apparire per lo meno stravaganti, costituiscono invece l'eccezionalità dell'esperimento, poiché la triturazione è equivalente a una stimolazione ossia a una produzione di lavoro, e l'estrazione con alcool ghiacciato consente la rapida inattivazione degli enzimi impedendo il verificarsi di grossolane trasformazioni chimiche durante la triturazione. Pertanto i due ricercatori, applicando questa loro tecnica, poterono dimostrare che il muscolo può effettuare contrazioni anaerobiche, durante le quali si produce lattato che si accumula fino a che il muscolo non è stanco, quindi, riportando il muscolo affaticato in presenza di ossigeno, il lattato scompare e il muscolo riprende a lavorare; inoltre dimostrarono che la contrazione aerobica produce meno lattato di quella che si verifica in assenza di ossigeno.

Stabilito ciò, poco dopo Mayerhof poté mettere in evidenza che il lattato deriva dal glicogeno e che in assenza di ossigeno la quantità di lattato prodotto coincide con quella di glicogeno scomparso; seguì quindi la dimostrazione della stretta proporzionalità esistente tra la quantità di lavoro svolto, il calore e la tensione sviluppate, nonché la quantità di lattato prodotta e, infine, a vent'anni di distanza dagli esperimenti di Fletcher e Hopkins, divenne un dato di fatto che il muscolo ricava l'energia occorrente per contrarsi trasformando il glicogeno in lattato.

Restava da chiarire il significato dei composti fosforilati che i ricercatori ritenevano di primaria importanza, esattamente come nella fermentazione alcolica. Dopo aver tritato finemente il muscolo raffreddato e fatte precipitare le proteine, ad es., con acido tricloroacetico, si procedette poi alla determinazione del contenuto di fosfati. Si scoprì quindi la presenza di un composto che risultò poi essere la fosfocreatina (contenente un legame fosforico altamente energetico) che si scinde durante la contrazione muscolare, aerobica o anaerobica, per essere risintetizzata quando il muscolo è in riposo. Inoltre durante la contrazione muscolare la fosfocreatina si scinde prima e più rapidamente del glicogeno, il che fece pensare sin da allora che tale scissione

rappresentasse la fonte di energia necessaria alla contrazione e che la glicolisi fosse indispensabile per risintetizzare la fosfocreatina.

Si dovette però attendere sino al 1930 e alla evidenziazione delle strette analogie tra lieviti e muscolo, relativamente al metabolismo glucidico, nonché alla scoperta della presenza in entrambi dell'ATP, per convincere gli assertori della teoria del lattato ad accettare la nuova. [N.d.R.]

⁴ La clorofilla non esiste libera nelle piante, ma è sempre contenuta in un complesso lipoproteico stabile alla luce e all'ossigeno atmosferico, cui partecipano anche altri pigmenti come i carotenoidi e la xantofilla. Le prime acquisizioni relative alla clorofilla risalgono al 1818 allorché Pelletier e Caventou ne riconobbero la natura cromoproteica, ma la sua struttura fu chiarita (da Willstätter, Stoll, H. Fischer e Corrent) nel periodo compreso tra il 1911 e il 1939 e la sintesi fu realizzata solo nel 1961, quasi contemporaneamente in Germania da Strell e negli USA da Woodward.

La formula della clorofilla (che in questa sede non è il caso di riprodurre), da cui emerge a prima vista la stretta rassomiglianza chimica tra la clorofilla e l'emo, il gruppo prostetico dell'emoglobina, è quella della clorofilla *a*, di color verde-azzurro. Accanto ad essa si trova in natura anche una forma *b* di color giallo-verde presente nelle piante in ragione di 1 a 3 rispetto alla precedente, ma esistono anche tre altre forme *c*, *d*, *e*, presenti soprattutto nelle alghe e una batterioclorofilla presente nei batteri.

La clorofilla *b* ha un atomo di ossigeno in più e due di idrogeno in meno della *a* in quanto il gruppo $-\text{CH}_3$ in posizione 3 è ossidato a $-\text{CHO}$. La batterioclorofilla invece del $-\text{CH}=\text{CH}_2$ in posizione 2 ha il gruppo $-\text{COCH}_3$ e due idrogeni in più sul doppio legame 3-4. La struttura delle clorofille *c*, *d*, *e*, non è ancora ben chiarita.

La clorofilla si forma nelle piante con meccanismo simile a quello che porta alla sintesi dell'emo: da molecole semplici come glicocolle e acido succinico si forma la protoporfirina che unendosi al magnesio forma un complesso il quale subisce poi una serie di trasformazioni sino a *protoclorofilla*, quindi per via enzimatica questa assume due atomi di idrogeno e si trasforma in clorofilla. [N.d.R.]

⁵ Sarà però utile illustrare sommariamente il processo fotosintetico e le principali fasi in cui si articola tenendo presente che i momenti principali della fotosintesi sono dapprima la scissione dell'acqua, che richiede la presenza della luce, quindi la fissazione dell'anidride carbonica che, inizialmente legata alla fotolisi dell'acqua, può avvenire poi nell'oscurità.

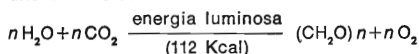
Studi piuttosto recenti hanno dimostrato che l'ossigeno che si sviluppa da una pianta in fase di attiva fotosintesi non deriva né dall'anidride carbonica né da altri composti, bensì dall'acqua. Infatti coltivando piante in acqua arricchita di ossigeno pesante (H_2O^{18}) si è potuto osservare che queste sviluppavano ossigeno marcato. L'ossidazione dell'acqua, processo complesso e peraltro non del tutto ben chiarito, oltre che luce richiede anche la presenza



Tre stadi successivi nella formazione della parete cellulare da vescicole del Golgi.

Scrutiamo la cellula

di clorofilla e altri reagenti e consta della sottrazione di idrogeno con conseguente liberazione di ossigeno. Poiché l'idrogeno sottratto all'acqua non si libera allo stato gassoso, è evidente che viene trasportato su un accettore intermedio che si riduce e che, mediante una serie di reazioni enzimatiche, lo trasferisce all'anidride carbonica la quale si trasforma in una molecola organica, e precisamente in uno zucchero:



con accumulo in esso di una grande quantità di energia chimica. I particolari di questa organica-

zione che procede "a rovescio" convertendo sostanze a basso contenuto energetico in composti a contenuto energetico più elevato, sono stati messi in evidenza usando come traccianti il carbonio radioattivo. Si è così visto che l'anidride carbonica per azione di un enzima (carbossilasi) si addiziona a uno zucchero a 5 atomi di carbonio, il ribulosio, il quale per carbossilazione, viene trasformato in un acido organico il cui gruppo carbossilico subisce l'attacco e la riduzione dal trasportatore di idrogeno; quindi mediante una serie di reazioni enzimatiche si perviene a uno zucchero a 6 atomi di carbonio, e a un'altra molecola di ribulosio che torna in circolo. [N.d.R.]

4. Tecnica di regolazione nella cellula

4.01 Produzione su misura

L'economia è il primo comandamento

Non è stato sufficiente uno sguardo superficiale per conoscere le singole parti che costituiscono la cellula e che sono talvolta numerose e complesse, ma si è resa necessaria l'interpretazione approfondita di molte sue figure. L'architettura, per quanto significativa, ci ha soltanto mostrato le mura entro cui si svolgono i veri processi vitali. Ora, dovendo ritornare agli aspetti funzionali, è meglio che ci ricollegiamo ai primi due capitoli del libro. Abbiamo visto che i geni, e le loro informazioni genetiche, sono trasmessi ai discendenti, e che i geni stessi fabbricano, anzi "coniano" gli enzimi. Potremmo semplicemente scrivere:

1 gene → 1 enzima.

Sarebbe un'illusione credere con questo di aver detto tutto. Se la cellula contiene tutti gli enzimi, potrà anche sintetizzare dagli alimenti tutti i composti che le occorrono e comporre le sue parti. Ma se sovente le cose semplici sono anche quelle giuste, solo raramente lo sono quelle semplificate. 1 gene → 1 enzima, 5.000 geni → 5.000 enzimi: ciò è senza dubbio troppo semplificato. Un vegetale, un animale, un uomo hanno molti tipi diversi di cellule. I globuli rossi del sangue possiedono un pigmento, l'emoglobina, la quale non compare nelle altre cellule che sono incolori. Soltanto le cellule del tessuto connettivo, e non le altre, secernevano sostanze che solidificano formando lo scheletro. Molti enzimi necessari alla digestione si formano solamente in ghan-

dole ben precise, ad esempio nel pancreas, e non altrove.

Siamo allora autorizzati a pensare che le cellule diverse di un organismo possiedono solo frammenti vari di genoma, e non il corredo completo dei geni? Dovremmo immaginare un meccanismo che frantumi i genomi e ne sopprima dei tratti: meccanismo che funzioni con precisione secondo un piano accurato ed intelligente, e che dovrebbe, al momento opportuno, essere diretto, e diretto mediante informazione. Altrimenti potrebbe capitare che cellule con clorofilla comparissero in una radice, o ghiandole digerenti nell'occhio, e così via. Ma se consideriamo gli esperimenti con talee di foglie di begonia, in cui da cellule di foglia verdi si producono pianticelle intere con radici e fiori, dobbiamo concludere che evidentemente ogni singola cellula dell'organismo possiede tutta l'informazione e non soltanto una parte. L'informazione completa rimane, in un certo senso, disponibile "a richiesta"; normalmente ne è utilizzata solo una parte, mentre l'altra resta di riserva per qualsiasi evenienza, per la rigenerazione ad esempio. Dobbiamo perciò formulare diversamente la domanda postaci: chi blocca i geni, e da quale piano è regolata la distribuzione delle informazioni in una cellula? Ciò significa che la cellula ha a sua disposizione cicli completi di regolazione, che non sfigurano affatto accanto a quelli della tecnica di regolazione moderna. Come sono costruiti e come funzionano?

Secondo ogni apparenza, la regolazione della distribuzione delle informazioni è della stessa natura della "differenziazione", cioè del fenomeno secondo il quale da una o da

poche cellule identiche si producono gradualmente cellule "differenti", specializzate in determinate funzioni avendone perse altre. In questo caso, i cicli di regolazione si potrebbero studiare soltanto in organismi superiori pluricellulari, tralasciando gli unicellulari, e particolarmente i batteri, perché non offrono differenziazioni di questo tipo. Ancora una volta le apparenze ingannano. È certo che un processo di regolazione sta alla base di ogni differenziazione, ma ogni regolazione non conduce inevitabilmente ad una differenziazione (stabile). Non è dunque affatto strano cercare meccanismi di regolazione anche e proprio nei batteri, che alla fin fine si lasciano maneggiare sperimentalmente con tanta facilità, ed hanno permesso le indagini più importanti sull'ereditarietà.

Non molto tempo fa si credeva veramente che la cellula batterica fosse soltanto un "involto pieno di enzimi", che, utilizzata tutta l'informazione, possedesse pronti all'uso tutti gli enzimi per i quali esistono geni, e fosse, così, preparata ad ogni eventuale processo metabolico. Oggi però si può calcolare la quantità di certi enzimi singoli presenti nelle cellule batteriche, e si vede che talvolta questa raggiunge il 5 %, e persino l'8 %, della quantità totale di proteine presenti nelle stesse cellule. Quindi queste cellule potrebbero al massimo contenere 12 enzimi differenti, mentre in realtà, per vivere, devono necessariamente averne centinaia, per non dire migliaia. Si potrebbe pensare che non tutti gli enzimi siano prodotti in così alta quantità, e che il complesso delle proteine sia suddiviso tra almeno una cinquantina di enzimi diversi. Ciò nonostante, come potrebbero svolgersi regolarmente tutti i processi vitali, se anche solo per la produzione di un unico enzima deve essere impegnata tanta sostanza (ed energia)? Non stupisce perciò se in tali cellule la crescita e la riproduzione sono fortemente ostacolate.

I batteri, con il loro enorme tasso di ripro-

duzione (in confronto a quello degli organismi superiori), sono sottoposti ad una notevole pressione dalla concorrenza. Possiamo anche parlare di "spinta della selezione". Quando una cellula riesce a costruirsi un "meccanismo più economico", il risparmio di lavoro rispetto alle sue vicine la rende più attrezzata per soddisfare nuove esigenze, come quelle che potrebbero sorgere da un cambiamento delle condizioni ambientali. I meccanismi economici hanno un "valore selettivo positivo"; anzi possiamo dire che nel processo evolutivo proprio i comportamenti più economici vengono selezionati (scelti).

Evidentemente il provvedimento più economico, semplice ed efficace è quello di produrre sempre e solo gli enzimi necessari per una data evenienza, trascurando completamente gli altri, oppure producendone piccoli quantitativi; il che equivale a non utilizzare tutta l'informazione presente, o ad utilizzarla solo in modo ridotto. Così l'organismo non si esaurisce inutilmente e crea una specie di riserva occulta di cui può disporre all'occasione.

Naturalmente simili meccanismi hanno importanza per l'evoluzione soltanto se ereditabili, cioè solo se l'informazione che corrisponde ad essi è ancorata al genoma sotto forma di "gene regolatore". In tal caso questi meccanismi sono anche accessibili per l'analisi genetica. Non dovremo stupirci se i fondamenti delle nostre conoscenze sulla tecnica della regolazione nella cellula derivano ancora una volta da esperimenti su batteri. Non dovrebbe poi essere tanto difficile cercare una corrispondenza con i vegetali, gli animali e l'uomo.

4.02 Regolazione della sintesi degli enzimi: I

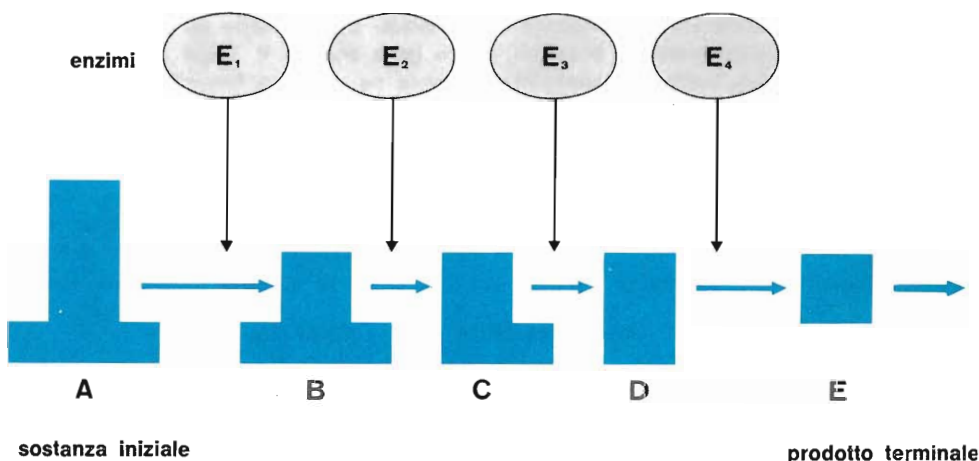
Repressione = inibizione mediante il prodotto terminale

Consideriamo, anche se non è tra le più semplici, la sintesi delle proteine, dato che

ne conosciamo numerosi particolari fin dal primo capitolo. Qualora una cellula, per una ragione qualsiasi, non producesse più proteine, tutto il materiale da costruzione — cioè gli aminoacidi — rimarrebbe inutilizzato, e si accumulerebbe in modo superfluo se la sintesi di questi aminoacidi dovesse continuare. Una cellula che, giunta a questo punto, arrestasse la successiva sintesi degli aminoacidi, opererebbe senz'alcun dubbio in modo più economico di una cellula senza "freni". Per vedere come possa avvenire questo rallentamento nella produzione degli aminoacidi, ci limiteremo a considerarne uno solo, ad esempio l'arginina. La sintesi dell'arginina dai suoi precursori (la cui natura qui non interessa) si compie in almeno quattro tappe, e le occorrono quindi quattro enzimi, la cui sintesi è diretta da altrettanti geni. I quattro enzimi lavorano sempre insieme, a catena: il primo enzima trasforma il composto di partenza A in B, il secondo trasforma B in C, il terzo C in D, infine il quarto enzima trasforma D

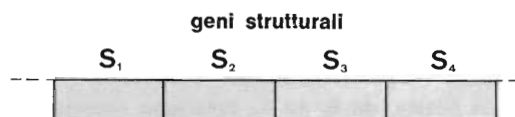
in E, cioè nel prodotto terminale, l'arginina nel nostro caso. (La prima parte di una reazione simile è stata rappresentata figuratamente all'inizio del libro con una sega e una trancia nella figura a p. 19.) Se ad un tratto l'arginina non è più necessaria, tutti gli enzimi, da E_1 ad E_4 , diventano superflui, vengono demoliti (essendo i loro elementi costitutivi utilizzati diversamente), e la loro sintesi s'interrompe.

Ma in che modo? Per ciascuno singolarmente o per tutti in massa? L'ultimo sarebbe il modo più semplice. La prima indicazione che la cellula segue davvero quest'ultima via si ebbe quando si cercò nel genoma la posizione dei geni corrispondenti agli enzimi (e si è visto a p. 100 come si compilino queste mappe genetiche). Essi sono situati uno accanto all'altro e nello stesso ordine in cui gli enzimi si susseguono nella loro azione. Per evitare confusioni indichiamo i quattro geni con $S_1 \dots S_4$, e li consideriamo "geni di struttura" da 1 a 4, poiché effettivamente determinano la strut-



La catena di enzimi da E_1 a E_4 trasforma il composto iniziale A nel prodotto terminale E.

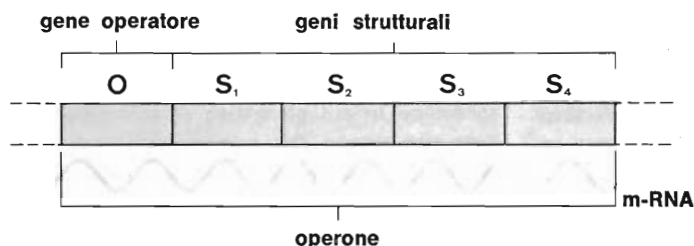
tura degli enzimi da E_1 a E_4 . Il tratto di genoma corrispondente si può allora rappresentare nel seguente modo:



I geni di struttura da S_1 a S_4 si susseguono nel genoma con la stessa successione delle reazioni compiute dagli enzimi da essi sintetizzati.

Un gene supplementare, detto "gene operatore" (O), provvede che tutta la serie dei geni da S_1 ad S_4 sia disinserita contemporaneamente. Questo gene risiede (probabil-

mente ancora molte incertezze. Si conoscono geni operatori mutanti; si pensa che il gene operatore permetta o impedisca la lettura dell'informazione genetica dal DNA. Non è ancora stato definito se il gene operatore è un gene indipendente accanto (davanti) a S_1 , o se costituisce soltanto la regione iniziale di S_1 . È certo però che le condizioni del gene operatore, che permettono la lettura quando è "aperto", e la impediscono quando è "chiuso", sono determinate da qualche altra cosa, non dal gene operatore. Sarebbe molto semplice se il prodotto terminale accumulatosi, nel nostro caso l'arginina, agisse direttamente sull'operatore



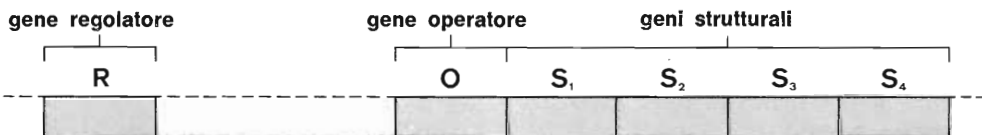
Un operone comprende i geni di struttura ed il gene operatore anteposto.

mente sempre) ad un'estremità della catena dei geni. Il gene operatore controlla in un certo senso tutti i geni di struttura, e stabilisce se debbano essere attivi nella produzione degli enzimi corrispondenti o se invece debbano rimanere inattivi. L'insieme di gene operatore + geni di struttura si dice "operone". Il termine è stato coniato dai due genetisti francesi François Jacob e Jacques Monod, che ottennero nel 1965 il premio Nobel per aver formulato l'ipotesi dell'operatore.

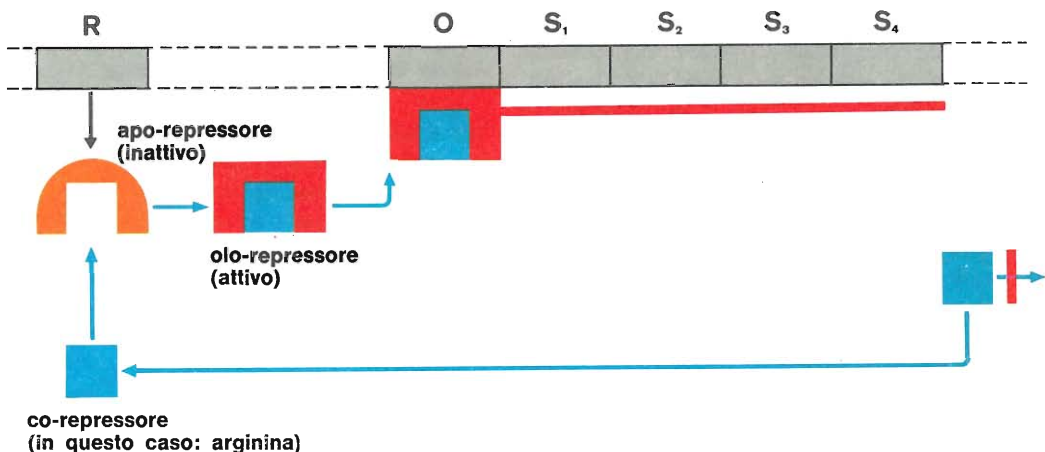
Sulla natura del gene operatore esistono

mettendolo in condizione di arrestare la lettura. Questa volta però lo svolgersi dei fatti è più complesso proprio per ragioni di economia. È necessario far intervenire un altro gene ancora, il "gene regolatore R". Il nome ne rivela la funzione: regolare lo stato (aperto/chiuso) dell'operatore. R in quanto gene è naturalmente situato nel genoma, ma non in posizione adiacente ad O, bensì ad una certa distanza.

Tra R ed O c'è ancora un'altra differenza: l'operatore agisce direttamente sui geni di struttura vicini, il gene regolatore invece



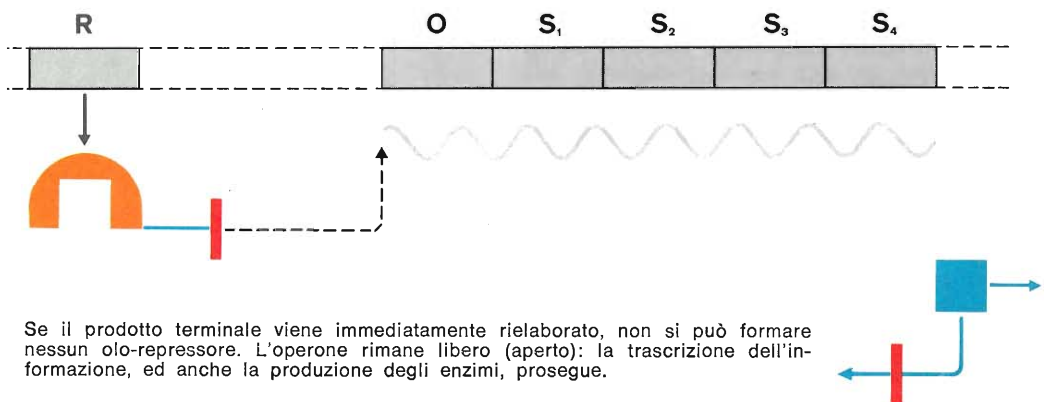
Un gene regolatore R, distanziato dall'operone, regola le condizioni del gene operatore.



Il gene regolatore (R) produce un apo-repressore inattivo. Quando all'apo-repressore si unisce un co-repressore si forma un olo-repressore attivo che blocca il gene operatore (O) ed impedisce la lettura dell'informazione contenuta in $S_1 - S_4$, necessaria alla produzione degli enzimi $E_1 - E_4$.

emette una sostanza nel citoplasma. Questa sostanza, in sé senza efficacia, può unirsi nel citoplasma ad una sostanza a basso peso molecolare — come l'arginina — diventando attiva e bloccando l'operatore. L'azione che inattiva il gene operatore, con l'effetto d'interrompere la lettura dell'informazione e quindi la sintesi degli enzimi, è detta "reprimere", ed il risultato di bloccaggio ottenuto è detto "repressione". È ovvio chiamare "repressore" la sostanza che causa questa inattivazione (purtroppo la nomenclatura in questo caso non è sempre

logica ed univoca; cercheremo perciò di usare nomi nuovi il meno possibile). Il repressore appare composto: composto dalla sostanza prodotta (codificata) dal gene regolatore R, e — nel nostro caso — dall'arginina. Per analogia con l'apo-enzima ed il co-enzima che compongono l'olo-enzima, parleremo di "apo-repressore" e di "co-repressore". R produce l'apo-repressore, in sé inattivo, e lo versa nel citoplasma; il prodotto terminale della catena enzimatica $E_1 - E_4$, cioè l'arginina, si unisce all'apo-repressore per formare l'olo-repressore, il quale



Se il prodotto terminale viene immediatamente rielaborato, non si può formare nessun olo-repressore. L'operone rimane libero (aperto): la trascrizione dell'informazione, ed anche la produzione degli enzimi, prosegue.

a sua volta reprime il gene operatore, e con questo tutto l'operone adibito alla fabbricazione dell'arginina. Se invece l'arginina prodotta dagli enzimi E_1 - E_4 è immediatamente utilizzata — con incorporazione, ad esempio, in determinate proteine — non si accumula e non rimane disponibile per formare, insieme all'apo-repressore, un repressore attivo. Ne consegue che l'operatore in questo caso non è bloccato e che la sintesi degli enzimi, dall' E_1 all' E_4 , e quella dell'arginina che ne deriva, proseguono indisturbate. Le due figure a p. 207 rappresentano schematicamente i vari rapporti. Apo- e co-repressore sono strettamente specifici: l'arginina non arresta la sintesi di altri aminoacidi, agisce unicamente sul suo apo-repressore ed attacca solo l'operone dell'arginina, e nient'altro.

È chiaro il significato biologico ed economico di un simile ciclo controllato: la produzione è diretta esattamente secondo le necessità e può essere detta "su misura". Occorre molto materiale: la produzione prosegue senza interruzioni. Il consumo cala: la produzione è ridotta all'origine, al livello dei mezzi di produzione. Gli enzimi ancora eventualmente presenti gradatamente deperiscono. Questo modo di attuare un arresto della sintesi mediante intervento del prodotto terminale è molto efficace, ma offre anche due inconvenienti. Uno potrebbe consistere nella complicazione (presunta) della via indiretta che passa dal repressore. In realtà finisce con l'essere vantaggiosa, perché (come vedremo più avanti) lo stesso meccanismo, solo con lievi modifiche, può essere utilizzato ad altri scopi.

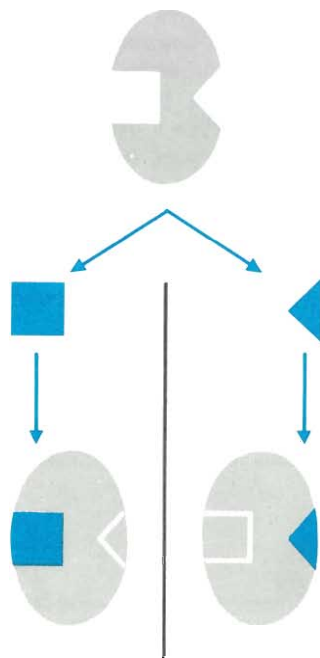
Un vero svantaggio è invece l'innegabile lentezza della repressione. Prima che l'interruzione della sintesi degli enzimi faccia sentire tutti i suoi effetti, gli enzimi residui possono ancora fabbricare notevoli quantità di prodotto terminale, anche se non è più necessario. La repressione è dunque soltanto un tipo grossolano di regolazione. Ne esiste allora uno più preciso?

4.03 Intervento di alta precisione

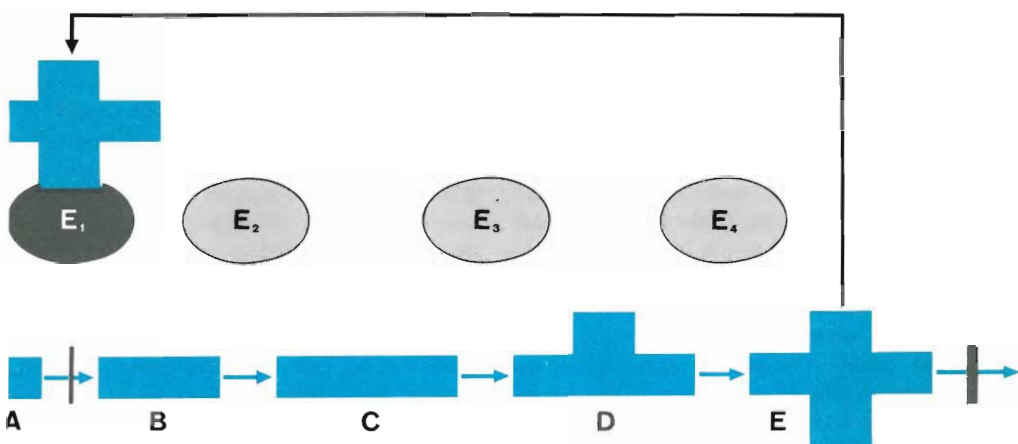
Azione diretta sull'attività enzimatica

Come nella repressione ora descritta, nella regolazione di precisione tutta la catena di enzimi è disinserita; interviene sempre il prodotto terminale (non utilizzato), che però questa volta agisce direttamente sul primo enzima E_1 della catena e non, in qualità di co-repressore, sul gene operatore. Il prodotto terminale si unisce direttamente all' E_1 , inattivandolo.

Un enzima-proteina, almeno quando sta all'inizio di una catena di sintesi, possiede, oltre al punto d'attacco per il co-enzima, altri due punti d'attacco specifici: uno per il sostrato A da elaborare, ed uno per il prodotto terminale della sintesi. Questi due punti non sono uguali fra di loro; non succede



Le proteine allosteriche hanno due punti d'attacco. Occupandone uno, l'altro rimane sbarrato.



Intervento di alta precisione. Quando il prodotto terminale E si accumula, può unirsi direttamente all'enzima E_1 inattivandolo. Così cessa ogni altra elaborazione del substrato iniziale A.

semplicemente che venga legato il prodotto terminale nel posto del substrato A, e che A sia così rimosso dalla superficie dell'enzima. I due punti d'attacco sono, nella loro conformazione "sterica", troppo diversamente modellati perché ciò avvenga. Se il prodotto terminale si unisce all'enzima, questo viene talmente alterato nelle sue proprietà, che il substrato iniziale A non può più essere trasformato in B. A cagione di questi due punti d'attacco, "stericamente" diversi ed altamente specifici, queste proteine sono dette "allosteriche" (vedi figure alle pp. 208 e 209).

Il bloccaggio del primo enzima della catena di sintesi mediante il prodotto terminale è di azione immediata perché, appena si manifesta l'effetto allosterico, viene arrestata la produzione proprio del primo prodotto intermedio, e quindi naturalmente quella di tutti i successivi. Questo sistema controllato implica una retro-azione, un feed-back ("impulso di ritorno"). Con maggior precisione si tratta di un feed-back negativo, poiché il prodotto terminale arresta tutta la produzione nel suo complesso invece di stimolarla (come al contrario succede nel

feed-back positivo, ad esempio nella retro-azione degli apparecchi radio). Ne desumiamo che il principio della retro-azione, che si manifesta in questo sistema controllato tecnicamente semplice, era già applicato nella cellula vivente, con ottimi risultati, da milioni, per non dire miliardi, di anni.

Riassumendo: la regolazione di un processo di sintesi di una sostanza qualsiasi si compie in due modi: primo, mediante repressione (influenza sulla sintesi degli enzimi esercitata con il controllo della distribuzione delle informazioni, cioè della trascrizione al livello dei geni); secondo, con retro-azione (azione diretta sull'attività degli enzimi). Regolazione grossolana e di precisione collaborano così in modo stupefacente.

4.04 Regolazione della sintesi degli enzimi: II

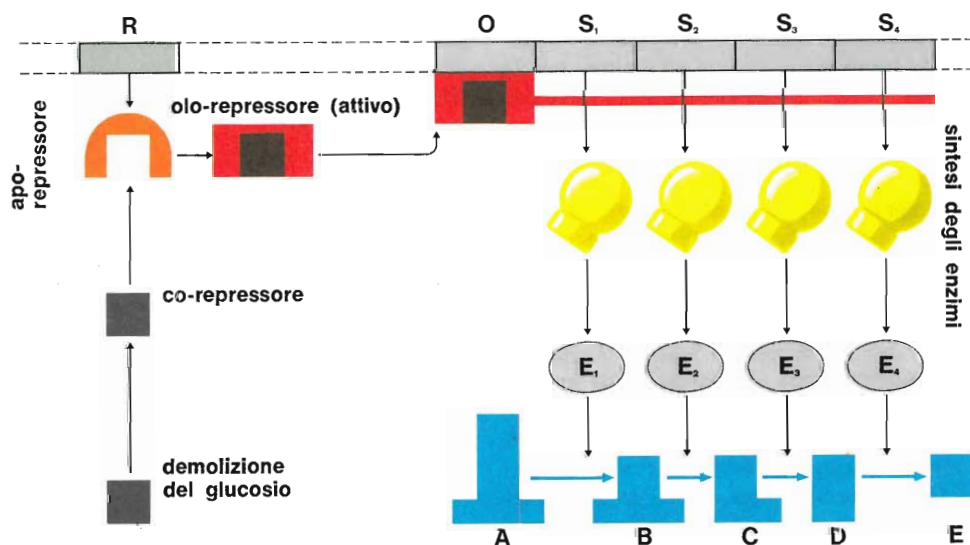
Induzione = stimolo provocato da sostanze nutritive

Quanto è stato detto sulla regolazione della sintesi degli aminoacidi vale anche, sen-

za limitazioni di rilievo, per la sintesi di altre sostanze, per esempio di quelle necessarie alla crescita, alla moltiplicazione cellulare, al raddoppio del DNA, eccetera. Ma la sintesi è soltanto una parte degli avvenimenti metabolici, quella che consuma energia e che impiega materiali fondamentali da costruzione. L'altra parte è costituita dai processi metabolici che scindono e demoliscono le sostanze nutritive assunte, fornendo in tal modo energia e procurando materiale da costruzione. Ma sono controllati anche questi processi di demolizione, ed entrano in azione cicli di regolazione simili ai precedenti?

I termini della questione vanno definiti in modo più preciso. I batteri si nutrono di zuccheri come il glucosio, il lattosio e simili, ma possono anche utilizzare tutta una serie di altri sostrati, che vengono tutti demoliti con enzimi, per lo più a gradi. Per utilizzare anche una sola dozzina di so-

stanze nutritive, occorrono almeno da 60 a 80 enzimi diversi. Evidentemente il batterio non si troverà quasi mai in presenza di tutte queste sostanze contemporaneamente. Si pensi all' "animale domestico" della genetica moderna, l'*Escherichia coli*, che può sopravvivere sia nell'intestino umano sia nelle acque di fogna. Sovente la composizione delle sostanze nutritive può cambiare nell'ambiente in cui vive il batterio. Sarebbe antieconomico, davvero uno spreco, se la cellula dovesse tener sempre pronti da 60 a 80 enzimi, "per ogni evenienza", mentre soltanto pochi le sono necessari in una determinata circostanza. Siccome in natura la parsimonia è favorita dalla selezione, anche in questo caso sono indispensabili i meccanismi di regolazione, i quali però devono agire in modo esattamente inverso a quello della sintesi degli aminoacidi. Un sostrato a basso peso molecolare, il lattosio ad esempio, dovrebbe dare l'avvio alla sintesi



Il co-repressore, piccola molecola proveniente dalla demolizione del glucosio, si unisce all'apo-repressore formando un olo-repressore che blocca il gene operatore. La sintesi degli enzimi occorrenti alla demolizione del lattosio viene immediatamente arrestata.

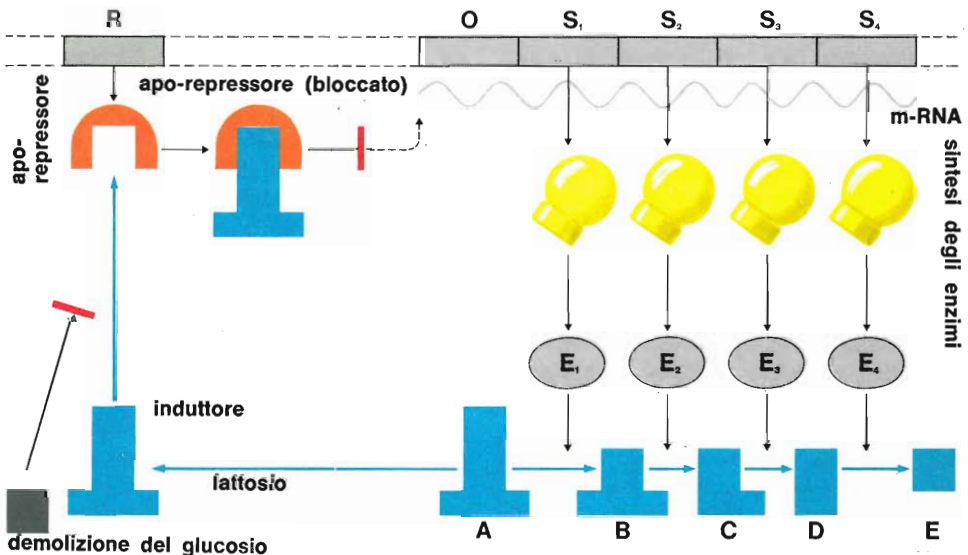
degli enzimi che lo trasformano, provocarla, e non bloccarla come avveniva con l'arginina.

Anche se agiscono in senso opposto, sono come prima gli stessi sistemi controllati, e solo con una lieve modifica. Il giro vizioso che passa dal repressore, notificato nella sintesi dell'arginina, permette alla cellula di utilizzare un unico principio di regolazione per due diversi scopi; quindi non le occorrono due tipi di circuiti di regolazione basati su piani diversi di organizzazione.

Prima di esaminare la "lieve modifica", dobbiamo citare un'importante eccezione, che si riferisce anche alla demolizione del glucosio. Il glucosio non è soltanto l'alimento preferito dai batteri; sul percorso della sua demolizione s'innesta anche la degradazione della maggior parte delle altre sostanze nutritive. Perciò la via, piuttosto lunga, di demolizione del glucosio è sempre lasciata libera: i suoi 10 enzimi circa, attivi e di-

sposti a catena, sono sempre pronti; la loro sintesi non è repressa. Questi enzimi sono detti "costitutivi" (e così tutta la loro catena), perché appartengono all'attrezzatura fondamentale della cellula.

Consideriamo ora un'altra sostanza nutritiva. Scegliamo il lattosio perché la sua demolizione, e la sua regolazione fino al punto in cui s'innesta nella via di demolizione del glucosio, sono state studiate a fondo. Occorrono nuovamente numerosi enzimi, i quali sono anch'essi raggruppati in un operone (come indica la figura a p. 206); troviamo sempre un gene regolatore annesso che produce un apo-repressore. Il parallelo con la sintesi dell'arginina prosegue ancora per un tratto: se un co-repressore è presente, si unisce all'apo-repressore e forma un (olo-)repressore attivo, il quale a sua volta, bloccando il gene operatore, impedisce la consegna (la trascrizione) dell'informazione genetica contenuta nei geni di struttura del-



Se la quantità di co-repressore proveniente dalla demolizione del glucosio è troppo scarsa o nulla, il composto di partenza, il lattosio, si combina con l'apo-repressore formando un composto inattivo. Il gene operatore (O) viene sbloccato e quindi inizia la demolizione del lattosio.

l'operone. Qui inizia la "modifica" allo schema del ciclo descritto per l'arginina. Infatti ora il co-repressore è una sostanza che deriva dalla demolizione del glucosio. Se il glucosio è in quantità sufficiente, si produce anche molto co-repressore, e quindi si forma un repressore attivo che reprime la sintesi degli enzimi adibiti alla demolizione del lattosio. Si ottiene così un notevole risparmio. Perché la cellula dovrebbe sintetizzare, con dispendio di energia, enzimi per la trasformazione del lattosio, quando ha già a disposizione quantità sufficienti di glucosio che può utilizzare semplicemente con gli enzimi (costitutivi!) sempre presenti?

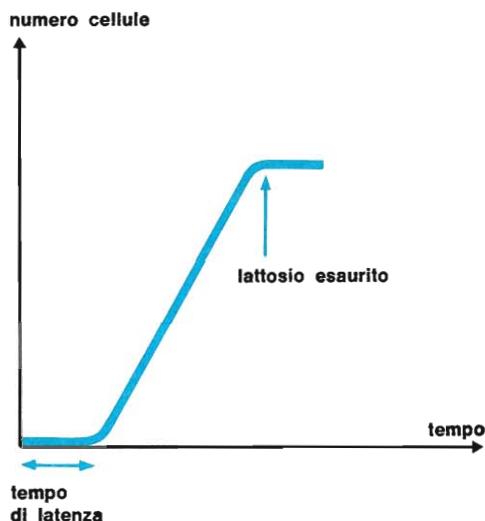
C'è però un'altra sostanza che ha di mira l'apo-repressore: l' "induttore", il quale è in concorrenza col co-repressore (derivante dalla demolizione del glucosio) nella tendenza a combinarsi all'apo-repressore. Se vi è abbondanza di co-repressore, l'induttore evidentemente ha poche probabilità di riuscita. Ma la situazione cambia quando, per esempio, il glucosio è quasi completamente demolito ed esaurito. La concentrazione del co-repressore cala rapidamente, al punto che l'induttore può sostituire il co-repressore. Se riesce ad unirsi all'apo-repressore lo rende inattivo. La combinazione apo-repressore + induttore rende inefficiente il repressore, in modo che il gene operatore è sbloccato, "derepresso". Come conseguenza i geni di struttura sono liberi di emettere le loro informazioni, gli enzimi per la demolizione del lattosio vengono sintetizzati, l'utilizzazione del lattosio ha inizio. Il significato di questi processi si chiarisce quando si sappia che l'induttore è il lattosio stesso, il quale "induce" (richiama) la sintesi di quegli enzimi che sono necessari alla sua utilizzazione (quando manchi il co-repressore proveniente dal sistema costitutivo del glucosio).

Riassumiamo quanto abbiamo detto sull'induzione della sintesi degli enzimi. Essa entra in funzione:

1. quando la sostanza da demolire (che agisce da induttore) è realmente presente;
2. quando non vi è (più) glucosio, scomposto nel corso della demolizione costitutiva. Avverandosi la seconda condizione, manca il concorrente co-repressore (che dovrebbe infatti derivare dalla demolizione del glucosio), l'induttore allora inattiva l'apo-repressore e l'operone è libero di funzionare. Se invece la seconda condizione non si avvera, si produce tanto co-repressore da spostare l'induttore lattosio dall'apo-repressore. Co-repressore + apo-repressore rendono attivo il repressore, l'operone sospende le sue funzioni, la sintesi degli enzimi è bloccata e così il lattosio non è inutilmente demolito.

Questo sistema di regolazione, anche se alquanto complicato, funziona perfettamente. Possiamo accertarlo seguendo nel tempo l'attività di batteri che non siano mai finora venuti a contatto con il lattosio, che cioè, nel linguaggio del microbiologo, "non siano adattati al lattosio". (Il termine "adattato" non va inteso in senso tanto generale da far credere che una cellula possa adattarsi ad un qualsiasi sostrato; il termine vale nei confronti di sostanze nutritive per le quali esistono, "sono previsti", nel genoma gli operoni necessari alla loro demolizione.) Se poniamo simili batteri non adattati al lattosio in una soluzione nutritizia che contenga, quale fonte di energia, proprio del lattosio, e misuriamo l'aumento della quantità di cellule, notiamo che l'incremento del numero delle cellule non avviene subito, ma dopo un certo tempo di avviamento, di latenza. In principio occorre che all'operone sia concessa libertà d'azione e che gli enzimi siano sintetizzati. Naturalmente in seguito il numero delle cellule sarà in continuo aumento, fino al punto in cui il lattosio sia completamente esaurito. A questo punto crescita e moltiplicazione si fermano e la curva ridiventa orizzontale.

Con un esperimento parallelo proviamo ad utilizzare, per gli stessi batteri, una solu-



La moltiplicazione cellulare in presenza di lattosio inizia dopo un certo tempo di latenza, e frattanto viene indotta la produzione degli enzimi.

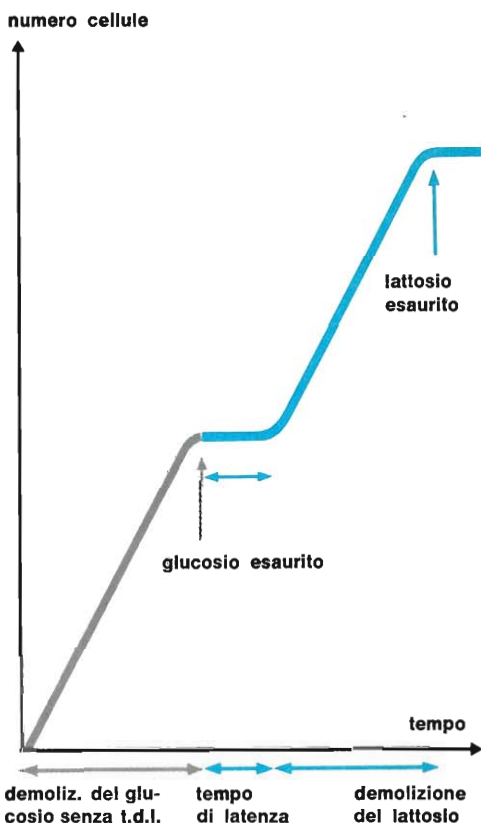
zione nutritizia contenente lattosio e glucosio. In questa l'aumento del numero delle cellule inizia immediatamente. Per primo viene demolito ed utilizzato il glucosio, per il quale gli enzimi (costitutivi) sono sempre presenti. Consumato il glucosio, anche in questo caso la curva di crescita ridiventa per un certo tratto orizzontale. Ora il co-repressore è scomparso, entra in azione l'induttore, il repressore inattivato lascia libero l'operone e così, dopo il tempo di latenza necessario alla sintesi degli enzimi adatti, inizia la demolizione del lattosio ed una nuova fase di crescita e di moltiplicazione cellulare.

Ma per valutare in tutta la loro precisione i processi di regolazione del ricambio, dobbiamo compiere un ultimo passo avanti.

Nella demolizione del lattosio sono utilizzati, ed in un certo senso accoppiati, due sistemi: in primo luogo la vera e propria demolizione del lattosio, in secondo luogo la demolizione costitutiva del glucosio, verso la quale vengono incanalati i prodotti

della demolizione del lattosio. Non è detto che le due vie siano perfettamente sintonizzate fin dall'inizio. Se la demolizione del lattosio procede con maggiore lentezza, è evidente che non capita alcun inconveniente, perché il sistema di demolizione del glucosio può senza difficoltà fare fronte agli scarsi prodotti di scomposizione del lattosio che si sono formati.

La situazione è diversa quando viene de-



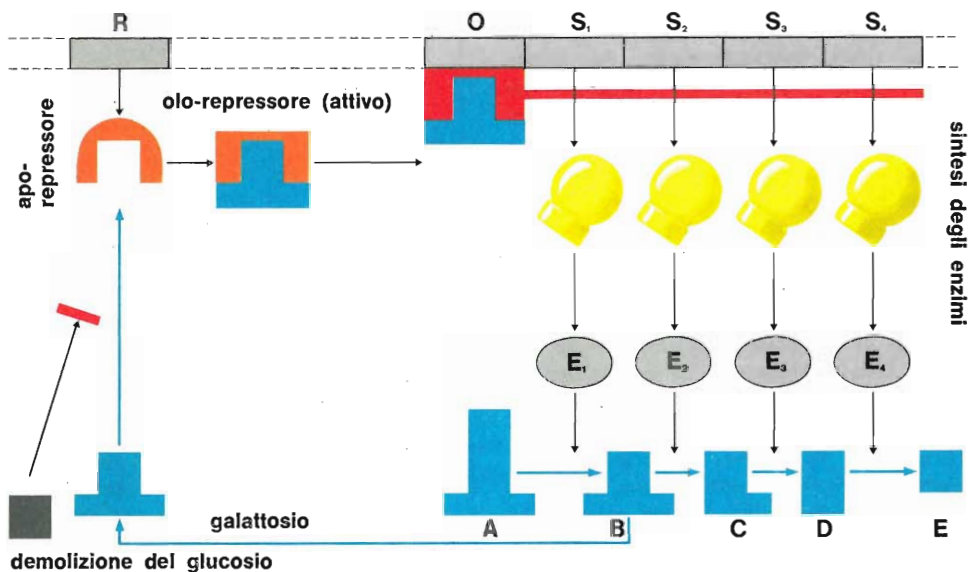
In presenza di glucosio e lattosio mescolati insieme, la moltiplicazione cellulare inizia senza che si manifesti un tempo di latenza: gli enzimi per la demolizione del glucosio sono costitutivi. Quando tutto il glucosio è stato consumato, occorre che possa funzionare l'operone della demolizione del lattosio. Di qui la necessità di un tempo di latenza (a metà della curva).

molito più lattosio di quanto possa smaltire la via di demolizione del glucosio. In questo caso entra in funzione la seguente "regolazione di precisione". Il galattosio (prodotto intermedio che si forma al primo gradino nella demolizione del lattosio), che finisce con l'accumularsi, agisce ora da co-repressore, sposta l'induttore (lattosio) dall'apo-repressore e ne prende il posto, formando un repressore attivo. Il gene operatore viene inibito nella sua attività, così la sintesi degli enzimi risulta bloccata, la demolizione del lattosio impedita almeno fino a quando la concentrazione del galattosio non sia diminuita. E in questo modo la concordanza tra i due sistemi è resa perfetta. Anche se chiarificatrice, la sottile distinzione tra enzimi regolabili mediante induzione o repressione, ed enzimi non regolabili, cioè quelli costitutivi, non soddisfa pienamente. Se gli operoni che reggono la produzione degli enzimi costitutivi possono agire inco-

dizionatamente, non c'è forse da temere una dannosa sovrapproduzione di enzimi costitutivi?

Questo argomento ha preoccupato anche biochimici e genetisti. Essi infatti sospettano (ma mancano ancora le prove sperimentali) che in realtà anche la sintesi degli enzimi costitutivi sia controllata. Si tratterebbe tuttavia di distinguere le catene enzimatiche che hanno scarsa produzione da quelle coinvolte invece nella produzione di forti quantità di sostanze.

Alla prima categoria appartengono ad esempio gli enzimi che fabbricano determinati co-enzimi. Infatti è vero che a ogni apoenzima occorre un co-enzima, ma siccome un apo-enzima è costituito da circa 150 aminoacidi, ed a queste 150 molecole di aminoacidi occorre solo una molecola di co-enzima, la sua produzione può quindi svolgersi anche molto lentamente. Per queste catene di sintesi "lente" sono dunque



Regolazione di precisione: qualora un prodotto intermedio della demolizione del lattosio si accumuli (B in questo caso), può funzionare da co-repressore unendosi all'apo-repressore e formando un olo-repressore attivo. Quest'ultimo impedisce la successiva demolizione del lattosio.

sufficienti pochi esemplari delle corrispondenti molecole enzimatiche. Sembra che il gene operatore ed i geni di struttura dell'operone interessato siano, per dir così, pigri di natura e consentano quindi la sintesi solo di piccole quantità di enzimi, che non richiedono una particolare regolazione. E se anche, poniamo il caso, dovesse una volta manifestarsi una sovrapproduzione di co-enzimi, questa non sarebbe certamente tale da spostare di molto l'equilibrio; probabilmente, quanto a dispendio di energia e quantità di sostanze occorrenti, la costruzione di un particolare sistema di regolazione sarebbe più gravosa dello spreco attuale. Invece nel caso degli enzimi costitutivi della demolizione del glucosio, che hanno una forte produzione, la concentrazione degli enzimi deve essere elevata e mantenuta tale, anche se non deve diventare troppo elevata. Una regolazione sarebbe possibile se, in primo luogo, induttore e co-repressore fossero "tra di loro imparentati", nel senso che l'induttore può derivare dal co-repressore o viceversa, oppure nel senso che induttore e co-repressore discendano da un precursore comune; in secondo luogo, se contemporaneamente si stabilisce un rapporto costante tra le quantità dell'induttore e del co-repressore. (Qualcosa di simile esiste in chimica organica.) Siccome però il co-repressore conduce al repressore attivo, e l'induttore a quello inattivo, la cessione delle informazioni da parte dell'operone è mantenuta costante (costantemente elevata). Ma si tratta solo di supposizioni che mancano di sostegno sperimentale; nella realtà i fatti sono forse ben diversi. Appare però certo che la suddivisione dei processi di sintesi e degli enzimi in regolabili e non regolabili, cioè costitutivi, non è del tutto esatta. Sarebbe meglio dire che esistono gruppi di enzimi funzionanti a catena, che sono mantenuti ad una concentrazione costantemente bassa (ad esempio per la produzione dei co-enzimi), altri invece a livello costantemente alto (ad esempio quelli per la de-

molizione del glucosio), ed infine altri ancora la cui concentrazione, regolata secondo le necessità, può oscillare tra valori molto alti e zero (ad esempio nella produzione di aminoacidi mediante repressione, nella demolizione del lattosio mediante induzione). Ma più dei particolari interessa il principio che governa i processi di regolazione e che può brevemente essere riassunto come segue: l'azione è eseguita da repressori che possiedono una doppia specificità (allostericità), da un lato per un gene operatore ben definito, dall'altro per piccole molecole citoplasmatiche (co-repressori o induttori), altrettanto ben definite. Ritornando alla questione iniziale, relativa alla regolazione dell'emissione d'informazioni, possiamo dire che alla doppia specificità, citata sopra, corrisponde anche una "duplice" trasmissione d'informazioni. Il Bresch, nel suo libro *Klassische und molekulare Genetic* (Genetica classica e molecolare), ha trovato per questo fenomeno espressioni così significative che conviene riferirle:

« Piccole molecole specifiche possono attivare o inattivare un repressore. Da un altro lato il repressore reagisce con un gene operatore specifico, e può così avviare o disinnescare la funzione di determinati gruppi di geni. Il repressore è, per così dire, l'intermediario tra plasma e genoma. Come l'RNA messaggero porta informazioni dal genoma al plasma, così il repressore le porta dal plasma al genoma...

« La ragione per cui i due sistemi d'informazione reciproca sono così diversi sta nell'essenza stessa delle informazioni trasmesse. In un caso sono direttive molto lunghe (m-RNA), nell'altro solo le brevi indicazioni di "produzione di enzima, alt", e "produzione di enzima, via". Una seconda differenza consiste nella mancanza di un preciso destinatario per le notizie che il genoma invia al plasma, mentre per le informazioni che dal plasma sono dirette al genoma esiste la precisa indicazione dell'operone cui sono indirizzate. Il genoma abbandona

na un lungo messaggio in bottiglia, senza indirizzo; il plasma invece dice solo "sì" o "no", ma dà alla sua comunicazione un indirizzo preciso per un operone. Siccome però il plasma non sa scrivere, la natura ha usato l'espedito di far redigere gli indirizzi sulle buste (i repressori) dal genoma stesso, e di fare in modo che ogni busta contenga solo l'informazione sulla presenza di una molecola ben specificata». Si potrebbe anche dire che le informazioni provenienti dal genoma non sono ordini, bensì proposte. Solo dopo che il plasma le ha contrassegnate con un "sì", assumono forza di legge e diventano esecutive, mentre con un "no" sarebbero rigettate.

Ora possiamo chiederci in che cosa consistano questi singolari repressori. Si tratta ancora una volta di acidi nucleinici? Fino a pochi anni fa si credeva davvero che lo fossero, poiché i primi "prodotti dei geni" non possono essere altro che molecole di m-RNA che hanno origine direttamente sul DNA col processo di trascrizione. Oggi invece si è inclini a considerarli molecole proteiche, ossia proteine a basso peso molecolare, compreso tra 2.000 e 10.000. I motivi sono due:

1. caratteristico dei repressori è l'effetto allosteroico, che compare soprattutto nelle proteine;
2. i cromosomi degli organismi nucleati superiori non sono soltanto costituiti da DNA e RNA nucleolare, ma contengono anche quantità sensibili di proteine, dette "istoni". Il loro peso molecolare va da 2.000 a 10.000, quindi è inferiore a quello degli enzimi-proteine e delle loro sotto-unità. Si sospetta che gli istoni servano ad ostacolare l'utilizzazione prematura d'informazioni che sono richieste in stadi più avanzati di sviluppo. Sotto questo aspetto potrebbero anche essere considerati una specie di repressore; torneremo subito sull'argomento.

Se fosse vero che i repressori sono proteine, non potrebbero evidentemente essere prodotti direttamente dal gene regolatore;

occorrerebbe una via indiretta con passaggio dall'RNA. Le idee sulla natura dei repressori sono dunque ancora molto vaghe ed ipotetiche.

Al contrario, l'esistenza dei repressori è indubitabile, come sappiamo da esperimenti di genetica. Per quanto incredibile possa apparire, tutte le particolarità dei meccanismi di regolazione di cui abbiamo parlato sono state svelate da esperimenti di ricombinazione con batteri in decine di migliaia di serie di prove, mediante coniugazione, trasduzione, trasduzione con partecipazione del fattore sessuale, inserimento in cellule batteriche di frammenti di genoma perfettamente noti in aggiunta al genoma batterico preesistente (eterogenoti, *vedi* a p. 120), eccetera. Non sarà mai abbastanza apprezzato il lavoro di pensiero che è stato necessario all'impostazione dei piani di sperimentazione e all'interpretazione dei risultati.

Anche il metodo genetico oggi è impotente a spiegare la costituzione chimica dei repressori. E siccome probabilmente un'unica molecola di repressore (attivo) è sufficiente a disinnescare un operone specifico, anche i metodi chimici, alla cui applicazione occorrono numerose molecole simili, falliscono. Soltanto la somma di tanti piccoli effetti singoli permette di registrare o misurare un valore. Per il momento una molecola singola non permette misure chimiche o fisiche, ma tutt'al più genetiche.

I repressori non limitano i loro interventi alla sintesi degli enzimi. A p. 116 ci siamo interessati ai fagi "temperati" che in una cellula lisogena non si moltiplicano liberamente, ma si replicano insieme al genoma batterico. Un repressore impedisce loro di moltiplicarsi liberamente, lo stesso che ostacola anche la moltiplicazione o semplicemente l'attività di altri fagi che successivamente infettassero la cellula: la cellula lisogena è infatti immune da altre infezioni (con gli stessi fagi). Si è dimostrato che in

questo caso il repressore è prodotto da un gene, un gene del fago.

Ciò che vale per i fagi dovrebbe valere in generale per tutti gli episomi, compreso l'RTF. L'esatta conoscenza di tutto quanto avviene nel campo dei repressori può perciò improvvisamente assumere grandissima importanza pratica, giustificando ancor più l'esposizione della teoria dell'operatore-regolatore, anche se assai complessa.

Concludendo, ci sia concessa ancora un'osservazione sull' "immunità delle cellule lisogene". Essa è quasi sempre limitata. Il possesso del profago P_2 rende la cellula immune contro altri 3 o 4 fagi P_2 ; se invece la infettiamo in forte eccesso con 20-30 fagi P_2 , l'immunità crolla. Questo si accorda bene con l'ipotesi avanzata poco prima, secondo la quale in una cellula probabilmente esistono soltanto poche molecole di un determinato tipo di repressore.

4.05 Orari per la richiesta dell'informazione genetica

Alla larva di maggiolino non occorrono colori per le ali

Finora ci siamo occupati quasi esclusivamente dei batteri, che sono unicellulari. Siamo autorizzati ad estendere agli organismi nucleati superiori quanto vale per i batteri? Diversi fatti lo sconsigliano.

1. I batteri hanno sviluppato i loro sistemi di regolazione per essere flessibili al massimo. L'induzione, la repressione, la de-repressione permettono alla singola cellula, secondo i principali cambiamenti delle condizioni ambientali, di mutare o invertire rotta allo scopo di consentire la sopravvivenza della cellula individuale, difendendola dalla pressione selettiva esercitata dagli altri individui della sua stessa popolazione. Negli organismi pluricellulari le singole cellule sono invece situate in un ambiente molto uniforme; esse collaborano, e parti diverse, e

diversamente estese, della loro informazione genetica sono di volta in volta durevolmente repressi (fuorché naturalmente nei casi di rigenerazione, e nella produzione di talee).

2. Più particolareggiate e valide sono le seguenti osservazioni: nelle *Salmonelle* (vedi a p. 134) i geni di struttura addetti ai 10 enzimi necessari alla sintesi dell'istidina sono disposti ordinatamente, come abbiamo visto, in un unico operone.

Invece nella muffa *Neurospora* e nelle cellule di lievito i geni relativi agli enzimi di un medesimo processo sono distribuiti su più cromosomi, pur essendo identiche le vie del ricambio nei tre casi.

Sappiamo anche che le unità d'informazione per la produzione delle quattro catene dell'emoglobina (vedi p. 30) non sono riunite. Tuttavia i diversi enzimi non agiscono indipendentemente l'uno dall'altro, e rimangono perfettamente coordinati.

In questi casi dunque non si può più parlare di operoni nel significato di vicinanza immediata tra geni di struttura e geni operatori; non si sa ancora con precisione come geni situati su cromosomi diversi possano essere repressi contemporaneamente e uniformemente.

3. Anche se i meccanismi di regolazione, usati dai batteri nelle sintesi o nelle demolizioni, comparissero con le dovute modifiche nelle cellule degli organismi nucleati, dovrebbero aggiungersi dei dispositivi in relazione allo sviluppo di un organismo superiore. La cellula batterica cresce e si divide (ed il ciclo talvolta non dura più di 20 minuti); le cellule figlie a loro volta crescono e tornano a dividersi, e così via. Negli organismi pluricellulari avvengono cose diverse: l'agave fiorisce soltanto dopo molti anni; la larva di maggiolino deve diventare pupa prima di trasformarsi in maggiolino adulto. Perché il germoglio dovrebbe sciocamente produrre pigmenti per i fiori, che per vent'anni non gli serviranno? Alla larva di maggiolino sarebbero utili le ali e le loro

sostanze colorate? Qui si riconosce una successione nel tempo nella richiesta delle informazioni, un vero "orario", che stabilisca per quanto tempo i geni preposti ai pigmenti dei fiori o alla formazione delle ali dei maggiolini debbano restare repressi, e quando invece possano subire la de-repressione. È ancora una volta un orario genetico, un "gene orario"?

Non lo sappiamo ancora. Molti fatti sembrano indicare che la richiesta delle informazioni non sia dettata dal nucleo stesso, o almeno non dal nucleo direttamente, ma sia promossa da fattori dell'ambiente esterno, considerando tali anche i dintorni del nucleo, cioè il citoplasma della cellula. In molti casi è sicuro che gli ormoni fanno parte di questo orario: ormoni sessuali, ormoni della muta e simili. È un campo di ricerche immenso, che solo ora la scienza si accinge ad esplorare.

Dopo quanto abbiamo detto, sorprenderà che a volte sia stato possibile osservare direttamente al microscopio la de-repressione (cioè la liberazione) della lettura (la trascrizione) dei geni.

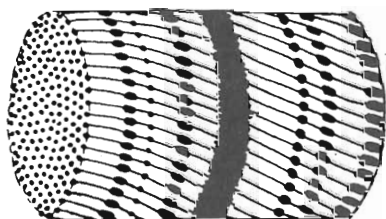
4.06 Cromosomi giganti mostrano l'orario della lettura dei geni

Geni in attività visti al microscopio

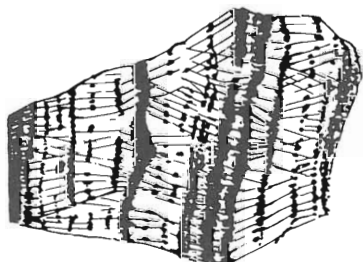
Nella descrizione della mitosi abbiamo visto che in un nucleo a riposo i cromosomi non sono rintracciabili, e si rendono visibili soltanto nella profase come lunghi filamenti distesi, cosparsi di piccoli granuli ("cromomeri"), per lo più già fessurati longitudinalmente in due cromatidi. Però in certi insetti, i ditteri — cui appartengono mosche e moscerini — le cose stanno diversamente, come se i nuclei di alcune loro cellule, o di interi tessuti, fossero in continua profase. Infatti i loro cromosomi sono sempre visibili, distesi e con tutti i cromomeri evidenti. Inoltre questi cromosomi, e se

vogliamo anche i loro cromatidi, si sono scissi longitudinalmente senza separarsi l'uno dall'altro, e non una o due volte soltanto, bensì assai più di frequente. Assumono così l'aspetto di fasci spessi costituiti da (sub-)cromatidi; ne sono stati contati fino a 4.096. Sono detti cromosomi politenici (= a molti filamenti), e si trovano anche in "appaiamento somatico": queste cellule sono infatti diploidi, ed i cromosomi omologhi dei loro nuclei sono accostati come se dovesse iniziare una meiosi. Sono veramente cromosomi giganti, che al microscopio offrono assai più particolari dei "cromosomi pachitenuici" (vedi a p. 88).

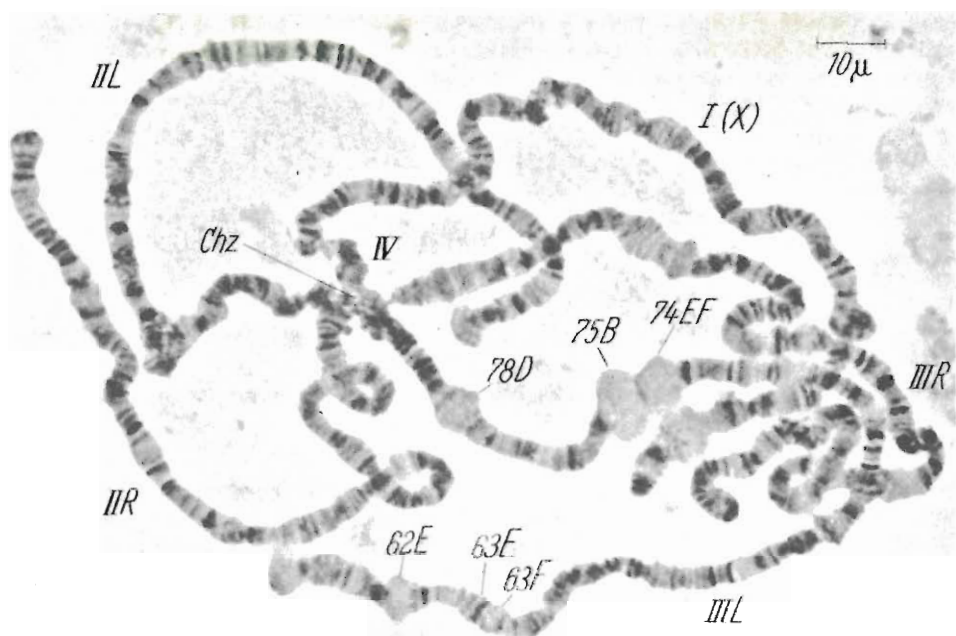
Il particolare più interessante è costituito da dischi trasversali, detti "bande". Sono formate dai cromomeri, disposti sui numerosissimi filamenti, che vengono a trovarsi esattamente l'uno accanto all'altro, tanto vicini da sembrare fusi insieme (vedi figure qui sotto). Diventano particolarmente evidenti quando si usano coloranti che si com-



Rappresentazione schematica della disposizione delle bande in un cromosoma gigante.



Sezione di un frammento di cromosoma gigante.



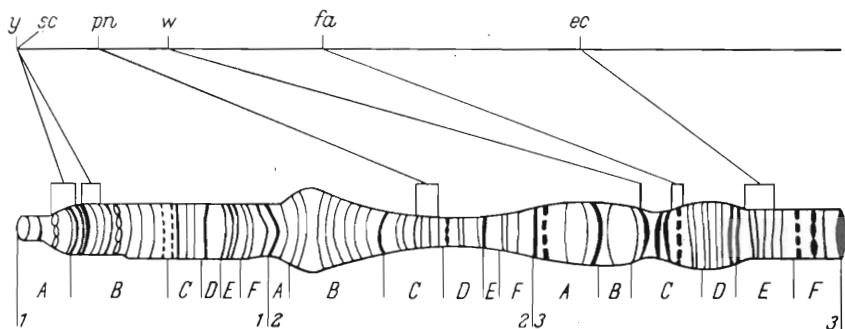
Cromosomi giganti di *Drosophyla*. Le braccia dei cromosomi (cifre romane come nella figura a p. 97) si riuniscono in Chz. I numeri arabi e le lettere maiuscole indicano gli sboffi e corrispondono a quelli indicati schematicamente nella figura a p. 223, in alto.

binano con il DNA. Le bande hanno uno spessore caratteristico e distanze caratteristiche. Se confrontiamo i cromosomi giganti di cellule provenienti da tessuti differenti di una stessa specie, o anche di uno stesso genere, notiamo che le bande si corrispondono perfettamente (quando i nuclei si trovino allo stesso stadio di sviluppo o funzionale, come diremo fra poco) (vedi figura qui sopra).

È una vera fortuna che questi cromosomi giganti compaiano anche nel moscerino *Drosophyla* più volte citato, specialmente nelle sue ghiandole salivari. La *Drosophyla*, che è certamente l'animale meglio studiato geneticamente, "ha fornito" anche le prime mappe genetiche. Confrontando le mappe genetiche con la posizione delle bande trasversali, si trovò una tale concordanza, da dover concludere che le bande corrispon-

dono a geni, così come vengono scambiati con *crossing-over* negli esperimenti d'incrocio (vedi figura a p. 220, in alto).

La possibilità di fotografare i geni ha costituito certamente un fatto d'importanza notevole, anche se limitato al caso particolare dei cromosomi giganti. Ma le sorprese non finiscono qui. Abbiamo appena detto che in una stessa specie o talvolta nello stesso genere le bande di cellule differenti si corrispondono *quando i loro nuclei si trovano allo stesso stadio funzionale*. Ciò significa che in stadi funzionali differenti compaiono delle diversità. In certi tratti — che possono comprendere una o più bande — il cromosoma politenico si allenta, proietta all'esterno tanti "fiocchetti" singoli che si addensano come uno spesso anello intorno al cromosoma. Il tratto espanso in cui avviene questo cambiamento assomiglia ad un

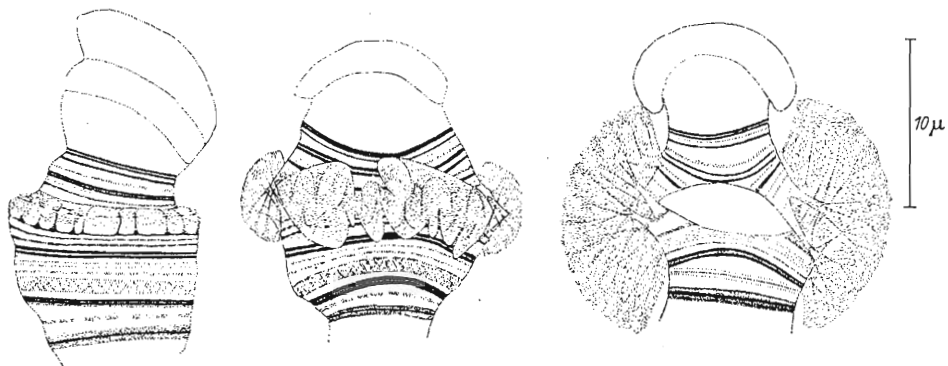


Confronto di un campione di bande (sotto) con la mappa genetica (sopra) in un cromosoma gigante di *Drosophila*.

grano di riso soffiato ed è detto "sboffo" (*puff* in inglese) (figura qui sotto). D'altronde Balbiani, già nel 1881, li aveva scoperti e descritti (sono perciò chiamati anche anelli del Balbiani); ma sono rimasti dimenticati per cinquant'anni.

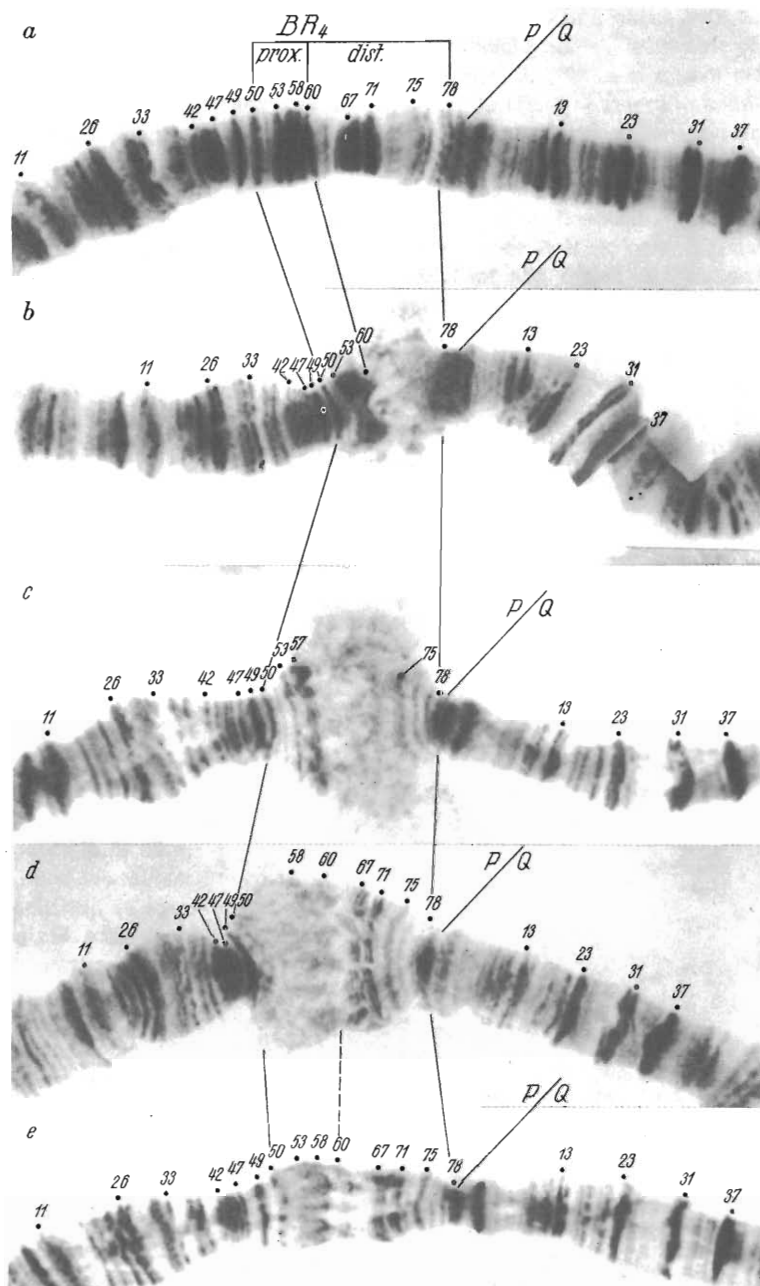
Questi sboffi non sono durevoli; dopo alcune ore le singole anse si ritirano e le bande riprendono il loro aspetto di prima. Confrontando fra di loro cellule di tipo diverso (e non solo stadi di sviluppo e funzionali differenti di una stessa cellula) si è scoperto che hanno modelli di sboffi diversi e specifici. Infine si è trovato che per ogni tipo di cellula la formazione degli sboffi segue un

proprio ordine strettamente cronologico. L'osservazione è relativamente semplice in *Acrisopus*, una zanzara. Come tutti gli insetti anch'essa subisce una metamorfosi, cioè cambia aspetto e passa dalla larva alla pupa, e poi allo stadio di insetto alato. Durante questa trasformazione, nei cromosomi delle ghiandole salivari vi sono circa 15 bande trasversali che formano sboffi, ma li formano uno dopo l'altro, in tempi successivi, secondo l'ordine con cui le stesse bande sono disposte nel cromosoma, una dietro all'altra. Tutto si svolge come se lo sboffo "migrasse" lentamente passando da una banda trasversale all'altra, dalla 1 alla



Formazione di uno sboffo (*puff*) su un tratto di cromosoma gigante.

Cromosomi giganti mostrano l'orario della lettura dei geni

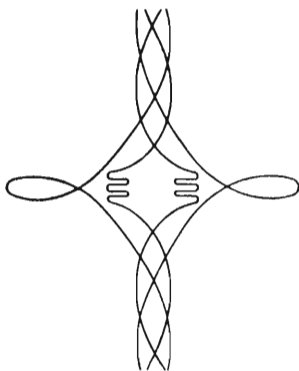


Uno sbocco si forma nel punto 75 (a), migra verso 57 (c) e scompare in 53 (e).

15. Ora nasce il dubbio che i geni (le bande trasversali) siano attivati uno dopo l'altro (figura a p. 221). È giusto?

Prima di essere in grado di rispondere, dobbiamo ancora occuparci dei particolari del comportamento delle anse che formano gli anelli del Balbiani. La figura qui sotto schematizza 4 filamenti soltanto di un cromosoma politenico. Essi sono "espansi" verso l'esterno. È chiaro che le 1.000, o anche 4.096, anse strettamente addossate nello stesso punto di un cromosoma appariranno come un anello del Balbiani.

Ma in che cosa consistono queste anse? In DNA, RNA, proteine? Con i metodi di colorazione si è stabilito che la quantità di DNA di uno sboffo non è maggiore di quella concentrata nelle bande non espanse; perciò il DNA potrebbe anche solo aver cambiato aspetto. Normalmente nei cromosomi non si rintraccia RNA, che invece compare subito quando si formano gli sboffi, come si dimo-



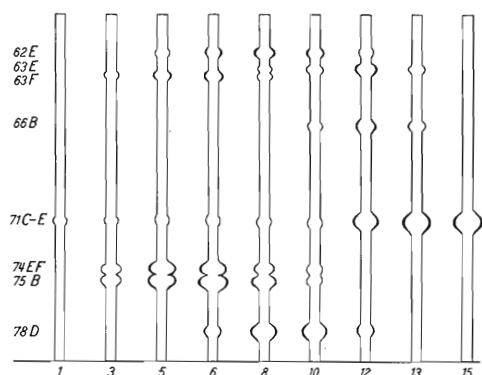
Rappresentazione schematica della formazione di anse quali causa di sboffi.

stra con coloranti per l'RNA o con sostanze marcate radioattivamente. Siamo riusciti già una volta ad inserire della timina marcata con tritio radioattivo in DNA batterico; se ora usiamo dell'uracile marcato allo stesso modo (sappiamo che U è incorporato soltanto dall'RNA e non dal DNA, che al suo

posto contiene la timina; vedi a p. 39) otterremo degli sboffi marcati, mentre non lo saranno, o quasi, le altre parti del cromosoma. Infine negli sboffi si possono rendere evidenti anche delle proteine: sarebbe più giusto dire dei (ribo-)nucleotidi, che sono dei composti di acido (ribo-)nucleinico e proteine. (Sono certamente questi a permetterci di vedere le anse, poiché i filamenti singoli di DNA o RNA sono troppo sottili per essere visti al microscopio ottico.)

Dopo quanto precede, dobbiamo ammettere che nelle bande, non espanse, il DNA deve essere in condizioni di forte attorcigliamento, ed inoltre ricoperto da proteine a reazione basica del tipo degli istoni (vedi a p. 216). L'informazione non è accessibile. Soltanto al livello degli sboffi gli ammassi compatti, svolgendosi, perdono torsione e si espandono all'esterno; in questo modo l'informazione viene liberata ed i geni attivati. Per questo l'ordine cronologico con cui si formano gli sboffi rappresenta proprio l'orario, la successione dei tempi, per la trascrizione dell'informazione.

Il coordinamento della formazione degli sboffi con la distribuzione sul cromosoma delle bande affiancate potrebbe farci sospettare di essere in presenza di veri operoni; le bande (e di conseguenza gli sboffi) si identificherebbero con i geni di struttura, ed il primo sboffo potrebbe essere considerato il gene operatore. Ma procediamo con cautela. Anzitutto stiamo confrontando dimensioni molto diverse: nell'operone siamo a livello molecolare, nei cromosomi politenici a livello microscopico. Inoltre qui dobbiamo citare un esperimento eseguito con *Drosophyla*. Durante la formazione della pupa, in un determinato tratto di cromosoma, compaiono circa 100 sboffi. Alcuni di essi sono stati indicati, nella loro successione temporale, nella figura a p. 223, in alto. Risulta chiaramente che in questo caso la comparsa nel tempo degli sboffi non segue la successione lineare delle bande. I tempi (l'orario) della comparsa degli sboffi non sono



Successione nel tempo (da sinistra a destra, in ore) della formazione degli sbocchi su un frammento di cromosoma. I contrassegni sulla sinistra corrispondono a quelli della figura a p. 219.

dunque sempre vincolati alla successione delle bande trasversali.

L'orario stesso è probabilmente ancorato geneticamente. Ma il momento in cui deve diventare operante è sovente stabilito dall'ambiente esterno. Gli "attivatori", che in un certo senso rappresentano (o danno) il segnale di partenza, sono talvolta gli ormoni, come avviene ad esempio nella formazione della pupa negli insetti. Il loro ormone si chiama "ecdisione", ed è certamente prodotto sotto la direzione di uno o più geni. La sua diffusione è invece condizionata dallo stadio di sviluppo e dall'ambiente esterno. L'ecdisione attiva parecchi geni (formazione degli sbocchi), i quali a loro volta provocano la formazione di sostanze che influenzano o attivano altri geni ancora, e così via, finché, un passo dopo l'altro, viene preparato tutto quanto occorre allo stadio di pupa.

4.07 La struttura intima dei cromosomi

Giunti e spazzole a rullo

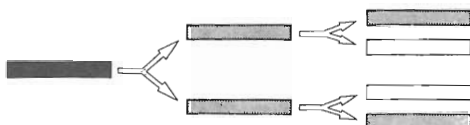
Non possiamo più, giunti a questo punto, esimerci dallo scendere in particolari sull'intima struttura dei cromosomi. Abbiamo

rinviato la questione troppe volte. Cerchiamo dunque di riunire tutte le nozioni che possono servirci a formare un "modello cromosomico" soddisfacente.

1. Quando il nucleo non sta dividendosi, i limiti dei cromosomi sono del tutto invisibili; neppure il microscopio elettronico fornisce immagini di sicura interpretazione. Per contro nel nucleo mitotico o meiotico si osservano cromosomi fortemente contratti e "attorcigliati" su se stessi.

2. Gli esperimenti di ibridazione (ricombinazione) ci dicono che tutti i geni sul cromosoma sono allineati uno accanto all'altro. Deve esistere un filamento continuo, una doppia elica continua di DNA. È verosimile però che questo filamento sia fortemente contratto e ripetutamente ripiegato, molto di più che nel genoma dei fagi o dei batteri. Altrimenti non si potrebbe spiegare la compattezza dei cromosomi come appare al microscopio ottico. Le lunghezze del genoma fagico e batterico, e di quello cromosomico di organismi nucleati, stanno tra di loro all'incirca come 1 (fagi): 100 (batteri): 10.000 fino a 100.000 (organismi nucleati). L'elica di DNA di un cromosoma di cellula del tritone crestato è lunga un metro, il cromosoma stesso solo pochi μ !

3. Dagli esperimenti sulla duplicazione si deduce che anche il cromosoma è costituito da due sotto-unità, che, se si separano, ricostituiscono ciascuna la metà mancante. A questo proposito si sono eseguiti esperimenti di marcatura con timina radioattiva anche sugli apici radicali di fava (*Vicia faba*), esattamente come con i batteri, otte-



Trasmissione semi-conservativa anche nei cromosomi (apice radicale di fava).

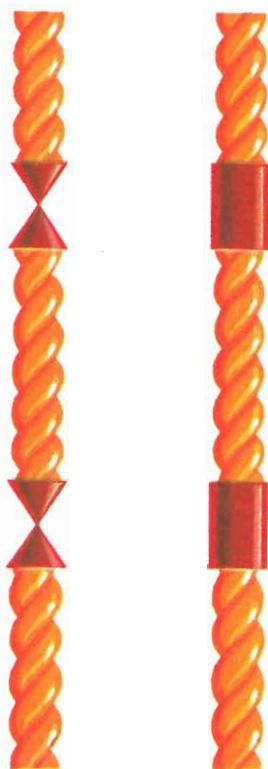
nendo gli stessi risultati (figura a p. 223, in basso). Anche i cromosomi in un certo senso sono trasmessi in modo "semi-conservativo" (vedi a p. 68); ogni volta una metà è "vecchia" e l'altra è di nuova fabbricazione. Di conseguenza:

4. Nel raddoppio dei cromosomi tutta la doppia elica continua di DNA deve aprirsi (meccanismo della cerniera lampo); il che si ottiene solo con rotazione. Ma quale velocità dovremo raggiungere per un cromosoma intero (elica di DNA lunga 1 metro!), se già con i genomi batterici si arriva a

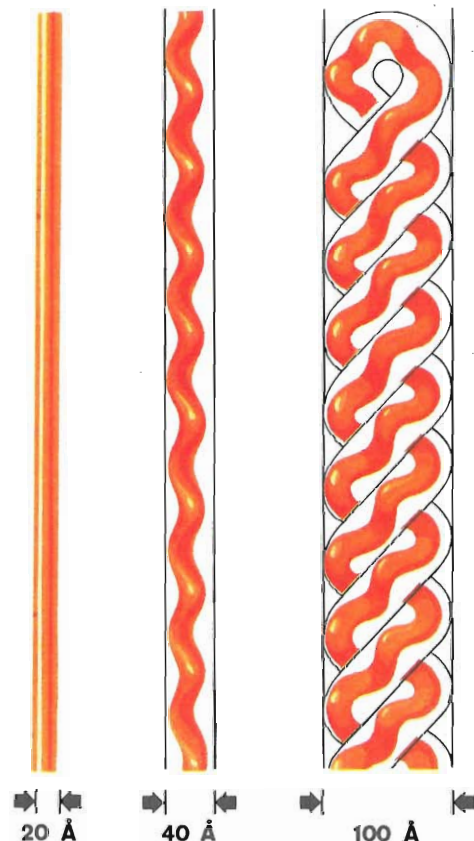
una velocità di circa diecimila giri al minuto? 5. Nei cromosomi giganti si è vista l'estrofflessione di sottili anse. Sono formate da una doppia elica attorcigliata o da un unico filamento disteso?

A dire il vero non è possibile oggi ricostruire un modello di cromosoma che rispecchi in modo soddisfacente tutti questi dati di fatto. Evidentemente i modelli immaginati sono molti, ma ciascuno ha almeno un punto debole.

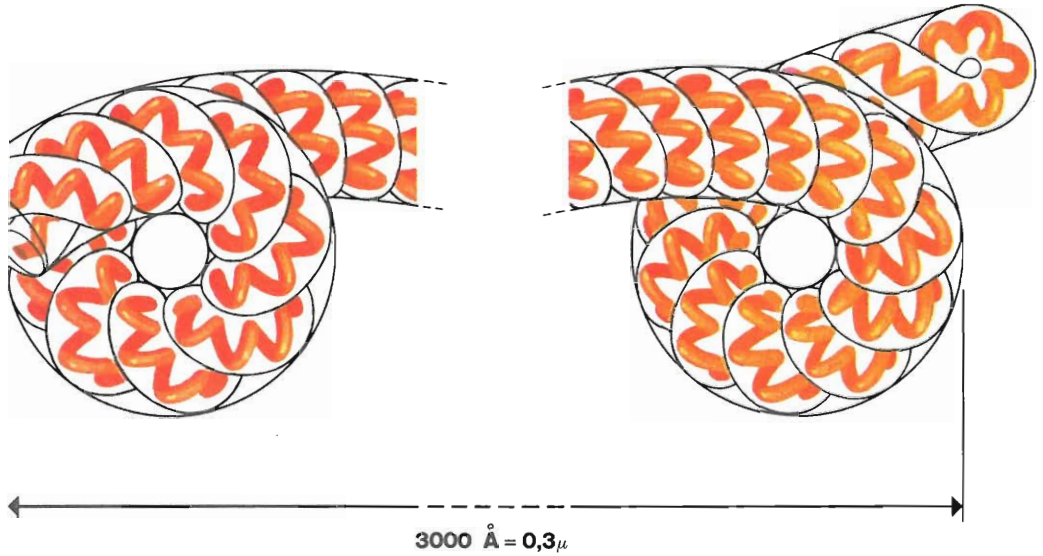
Si può prendere semplicemente una doppia elica continua; in questo caso si è in ac-



Doppie eliche di DNA, ciascuna con due giunti. Due differenti modelli.



Dalla doppia elica di DNA, con la sovrapposizione di istoni e successivo attorcigliamento, si formano cordoni di circa 100 Å di diametro.

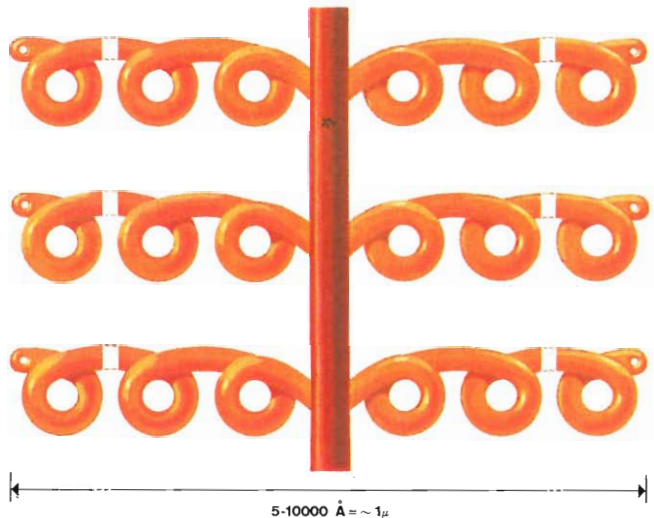


Il cordone spesso della precedente figura si avvita ancora su se stesso, formando delle supereliche.

cordo con gli esperimenti d'incroci e di replicazione, ma non si riesce a spiegare come il meccanismo a cerniera lampo possa funzionare tanto in fretta. Si potrebbe allora presupporre che la doppia elica di DNA sia costituita da sotto-unità più o meno indipendenti. Queste sotto-unità potreb-

bero sporgere come i denti di un pettine da un asse centrale continuo, il quale non dovrebbe necessariamente essere costituito di DNA. Siccome però, secondo i risultati degli esperimenti d'incrocio, le sotto-unità devono essere collegate tra di loro, non ci rimane altro che immaginare dei "giunti"

Disposizione delle supereliche innestate su un asse centrale come in una spazzola a rullo. Il diametro del tutto può corrispondere a quello di un cromosoma.



di rotazione. La rotazione potrebbe avvenire ogni volta tra un giunto e l'altro. I piccoli tratti compresi tra due giunti possono svolgersi, perdendo la torsione, contemporaneamente, ma compiuta la replicazione dovrebbero anche ritornare esattamente nella posizione primitiva, il che non è senza pericoli (figure a p. 224).

La rappresentazione più comoda deve forse essere immaginata diversamente. L'unità fondamentale è una doppia elica continua di DNA. Il suo diametro è di circa 20 Å. Forse a causa del depositarsi di istoni, essa si torce sul proprio asse diventando più spessa e raggiungendo un diametro di circa 40 Å.

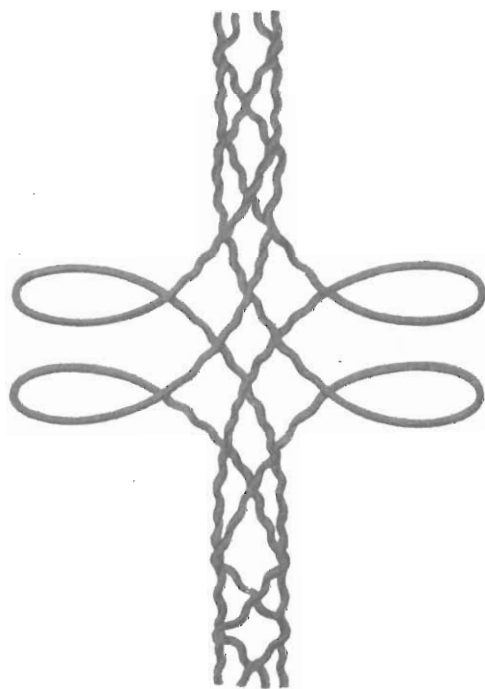
Un simile doppio filamento del diametro di 40 Å può a sua volta veramente "ritorcersi con se stesso". Si forma così un cordone

che ha all'estremità un occhiello, nel punto in cui uno degli elementi del ritorto torna indietro attorcigliandosi intorno al primo. Se questo "cordone con occhiello" a sua volta si dispone a vite, si formano delle "supereliche" che, raggiungendo i 0,3 μ di lunghezza, possono essere viste al microscopio (figura a p. 225, in alto).

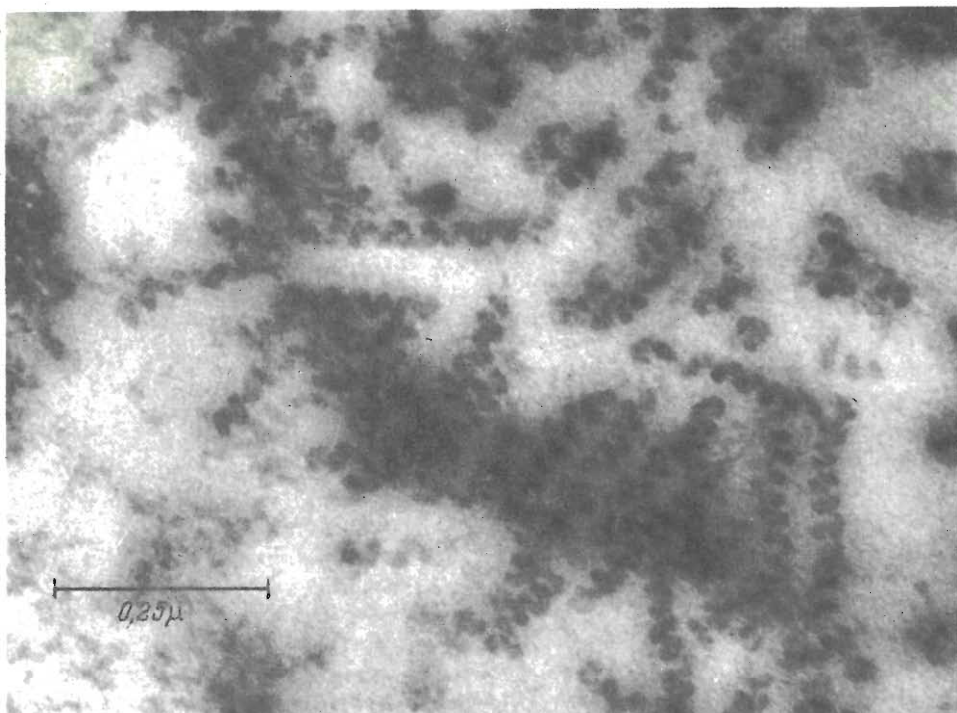
Dobbiamo inoltre immaginare che queste supereliche (che rappresentano forse ciascuna un cromomero) siano disposte perpendicolarmente ed in tutte le direzioni intorno ad un asse centrale, come le setole di una spazzola a rullo. Si ottiene così un corpo che potrebbe bene corrispondere ad un cromosoma. Questa struttura contratta e compatta deve evidentemente allentarsi molto nel nucleo interfase (a riposo) per permettere il raddoppio (replicazione) all'elica di DNA.

Anche in questo modo sono però sempre necessarie altissime velocità di rotazione per ottenere uno svolgimento nei dovuti termini di tempo: questo è il punto più debole del modello. Ma possiamo almeno immaginarci che nella formazione degli sboffi siano singole supereliche (cordoni con occhiello) a svolgersi, distendersi e liberare la vera e propria doppia elica con le sue informazioni genetiche (figura a fianco). Dobbiamo tener presente che questo è un vantaggio rispetto agli altri modelli. Questo modello ha molti particolari ancora incerti, ed altri che devono essere perfezionati, ma è utilizzabile sotto molti aspetti.

Proprio nei cromosomi appare chiaro che struttura e funzione sono interdipendenti, e che occorre fare molta attenzione prima di progettare modelli prendendo lo spunto solo dalla struttura o solo dalla funzione; quasi sempre perdono validità quando vi si deve includere "la pagina mancante". D'altronde esiste una fotografia al microscopio elettronico che in un certo senso ci tranquillizza per quanto riguarda il modello del cromosoma, e che ci illustra effettivamente queste supereliche "ricciolute" (figura a p.



Le anse di uno sboffo potrebbero formarsi con lo svolgimento delle supereliche.



Fotografia al microscopio elettronico di un nucleo di ameba. I "riccioli" corrispondono probabilmente alle supereliche.

227). Solo future ricerche potranno decidere se si tratti di singoli geni, di operoni interi (qualora esistano anche negli organismi superiori), o di unità maggiori.

E con ciò siamo tornati al punto di partenza del presente capitolo, cioè alla regolazione della cessione delle informazioni.

Non c'è dubbio che siamo ancora ben lontani da una conoscenza completa dei sistemi di regolazione di tutti gli organismi. Ma quanto già sappiamo rappresenta una messe imponente di risultati, che ci permette di capire molti fatti fino a poco tempo fa inspiegabili: l'elevata adattabilità dei batteri, l'economia nel consumo di sostanze e di energia, la differenziazione nell'ambito degli esseri pluricellulari, gli orari che determinano i tempi di formazione degli sboffi e

con essi della liberazione delle informazioni. Sono dunque numerosi gli aspetti fondamentali della tecnica di regolazione nella cellula che noi conosciamo, e non c'è dubbio che nel prossimo futuro altri principi ed altre particolarità saranno scoperti.

Ma più importante di tutte è l'osservazione che la cessione delle informazioni non segue ostinatamente una scheda perforata prestabilita, ma è invece flessibile e largamente influenzabile da fattori esterni. Il nucleo della cellula non è di necessità la centrale che comanda su tutto; sarebbe meglio confrontarlo ad un archivio, dal quale l'ambiente esterno, con l'aiuto del citoplasma, dei suoi induttori o co-repressori, richiama o respinge le informazioni secondo le necessità.

5. Le molecole della memoria

5.01 Dai filosofi greci ai biochimici

Ricerca della tavoletta di cera e dell'engramma

L'informazione genetica, scritta con 4 segni nelle molecole degli acidi nucleinici; la trasmissione ai discendenti delle "molecole dell'informazione";

la richiesta e l'attuazione dell'informazione per enzimi specifici, circuiti di regolazione e "caratteri definitivi"

sono stati l'argomento dei primi tre capitoli di questo libro, capitoli che potremmo definire "fisiologici". Tutto ciò è senza dubbio una questione di biologia molecolare o, più limitatamente, di genetica molecolare. Potrebbe sembrare quasi che la biologia molecolare non sia in realtà altro che biologia degli acidi nucleinici: questo non è del tutto esatto, ma non si può negare che proprio il concetto delle molecole degli acidi nucleinici — intesi come centri di controllo, o almeno come "archivio" (vedi a p. 227) — abbia esteso in modo eccezionale tutto il campo di ricerca biologica, ed abbia permesso di spiegare processi che fanno parte dei fenomeni fondamentali di tutti gli esseri viventi. Vent'anni fa ancora nessuno avrebbe osato sperare tanto.

Ma l'attività degli acidi nucleinici è limitata soltanto a questi tre campi? L'ipotesi che le molecole degli acidi nucleinici siano elementi che provocano o regolano anche altri fenomeni vitali non è del tutto priva di fondamento. Sull'esempio di autorevoli biologi, noi dobbiamo solo considerare l'informazione genetica come una specie di "memoria sopraindividuale". La cellula uovo feconda-

ta, che costituisce il principio di ogni singolo individuo, con la guida dell'informazione genetica "ricorda" come erano fatti gli antenati, e prende a svilupparsi in conformità a queste informazioni. E noi sappiamo di avere una nostra memoria individuale personale, e di poter richiamare alla mente fatti, sentimenti, sensazioni che già da molto tempo abbiamo lasciato indietro. Non potrebbero essere interessati anche a ciò gli acidi nucleinici?

Titoli come *La memoria dalla siringa, I vermi si cibano di conoscenza, L'RNA e l'apprendimento* indicano che le nostre supposizioni non sono né fuori luogo né originali, e che numerosi ricercatori, in numerosi laboratori, hanno lavorato a rendere evidenti ed a chiarire i rapporti tra la memoria e gli acidi nucleinici. Esaminiamo che cosa ne è scaturito.

Che cosa succede veramente, quando si ricorda un'azione o un evento, o quando si tiene a mente un nome? Per noi è del tutto naturale l'atto di richiamare alla mente qualcosa, tanto che non ce ne stupiamo affatto e quindi non ci soffermiamo a pensarci su. D'altra parte, talvolta ci è sfuggito di mente un nome che noi siamo assolutamente certi di conoscere, ma che in quel momento non riusciamo proprio a far riaffiorare; allora ci mettiamo ad almanaccare che cosa possa essere successo alla memoria, finché alla fine il nome ci torna in mente. Questo è successo agli uomini in tutti i tempi; e se erano filosofi, ci pensavano su, anche dopo che il nome dimenticato era stato rammentato. I primi filosofi greci pensavano che la mente dell'uomo fosse una specie di tavoletta di cera, che alla nascita

è vuota e sulla quale successivamente i fatti vengono "impressi" "dal dito dell'esperienza" (di qui il vocabolo "engramma", derivato dal greco, che designa la traccia lasciata impressa nella memoria). Le tavolette già scritte (l'uomo può forse averne parecchie) sono poi archiviate nel nostro cervello, e, all'occorrenza, estratte e lette.

Tutto ciò è esatissimo sotto l'aspetto formale, ma non ci dice nulla né sulla natura di queste tavolette di cera, né su quella dell'engramma. Ora cominciano a nascere i problemi, e si può con una certa sicurezza asserire, con il prof. McConnell, che lo studio della memoria non è altro che il problema e la ricerca della tavoletta e dell'engramma. Sarebbe affascinante esaminare cronologicamente come lo studio della memoria sia cambiato a partire dall'antichità, come le prime vedute puramente formali, in conflitto con le opinioni più comprovate, siano state superate, finché i tempi furono maturi ed i ricercatori preparati a riconoscere alla memoria una base fisica. Noi però non abbiamo l'intenzione di occuparci della storia della ricerca biologica; dobbiamo perciò lasciare da parte tutta la grande quantità di studi travagliati, ingegnosi ed altamente meritevoli che sono stati compiuti in passato per passare subito dalla filosofia greca alla moderna biochimica. Questo perché si tratta naturalmente di questioni biologiche: infatti "lo stenogramma in archivio", che è "pronto a richiesta" è un concetto, com'è naturale, esagerato, formulato in questo modo per poter rendere evidente un parallelo con l'archivio dell'informazione genetica (vedi a p. 227). Gli acidi nucleinici intervengono dunque anche qui? Sono loro a costituire le tavolette di cera, e sono le loro variazioni di forma a costituire l'engramma, l'impressione nella memoria?

A questo proposito facciamo subito un'osservazione: l'informazione genetica, la memoria della specie, è trasmessa, ereditata, da cellula a cellula, e da organismo ad organismo (tramite la doppia elica del DNA);

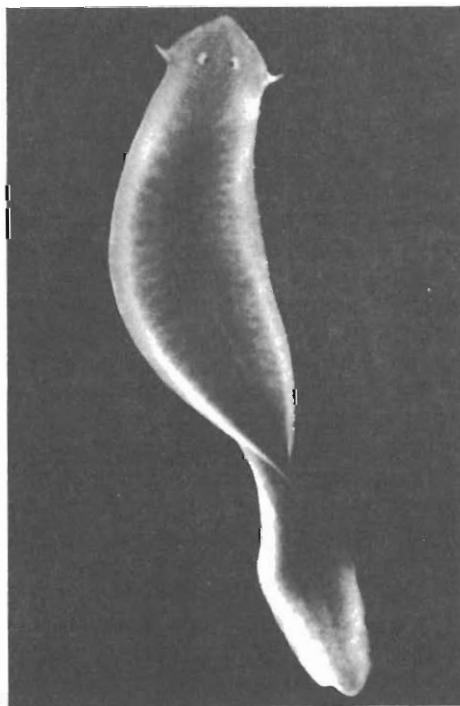
invece la memoria individuale non è purtroppo trasmissibile. Tutto il nostro tesoro d'esperienza e di vita, tutto ciò che noi abbiamo imparato (che spesso è il nostro unico patrimonio), non possiamo trasmetterlo ai nostri figli: essi devono impararlo di nuovo, dall'inizio. Se perciò a questi fenomeni sono interessati gli acidi nucleinici, senza dubbio interviene solo l'RNA, e non il DNA. Ne consegue immediatamente, nell'impostazione sperimentale del problema, che non possiamo utilizzare i metodi genetici, così sicuri, esatti e spesso eleganti; non possiamo affatto servirci di esperimenti di ricombinazione e di mutazione. Dobbiamo perciò indagare con metodi chimici e fisiologici. Ma che cosa vogliamo effettivamente ricercare?

5.02 Primi tentativi

Ancora una volta gli acidi nucleinici

Se incominciamo ammettendo che la memoria abbia un fondamento fisico e che il suo sostrato sia costituito da RNA (inteso come tavoletta di cera), o meglio da determinate configurazioni delle molecole di RNA (engrammi), allora misurazioni quantitative e qualitative dovrebbero darci le prime indicazioni sul problema. Ora, si sa che, ad esempio nel cervello umano, il quantitativo di RNA cresce sempre più dalla nascita fino ai quarant'anni; tra i quaranta ed i sessant'anni rimane costante, su un livello elevato, poi progressivamente decresce. Naturalmente la "curva" della capacità d'apprendimento ha un andamento del tutto identico; ma non dobbiamo sopravvalutare questo parallelismo. Forse la curva dell'RNA è una comune espressione di un'attività vitale prima crescente e poi decrescente, che può da parte sua, in via subordinata, coinvolgere un'attivazione, con successiva inattivazione, delle prestazioni della memoria. Ed inoltre è certo che una parte conside-

reole dell'RNA genetico è costituita da RNA messaggero, RNA di trasferimento ed RNA ribosomico, quindi viene utilizzata per la sintesi di enzimi e simili; di conseguenza non interviene come portatore di memoria. I ricercatori si sono ripromessi nuove acquisizioni dall'analisi di oggetti di esperimento durante un programma di apprendimento, ed immediatamente dopo. Tutte le piante mostrano un comportamento chiaramente deludente: esse sembrano non possedere alcuna memoria individuale nel significato comunemente dato a questo termine. Invece si prestano bene a simili ricerche animali di diverse specie: i ratti, che imparano facilmente, e anche i pesci rossi, noti come animali dichiaratamente stupidi, come pure certe forme primitive di plattelminti (le planarie).



Dugesia dorotocephala, un plattelminto sovente usato in esperimenti.

I ratti si lasciano ammaestrare ed addestrare molto facilmente. Si può loro insegnare a stare in equilibrio su un filo teso per raggiungere la loro mangiatoia, a prendere sempre la diramazione a sinistra quando si trovano davanti ad una biforcazione, eccetera. Imparano tutto questo nel giro di pochi giorni, secondo la frequenza con cui si fanno loro eseguire gli esercizi. Durante questi esperimenti la percentuale di RNA presente nel cervello cresce del 50 % circa. Inoltre si presentano delle differenze di qualità: nei primi giorni di apprendimento si ha RNA ricco di adenina + uracile (queste due sostanze sono complementari fra di loro e possono quindi essere computate insieme); invece al nono ed al decimo giorno, chiamati "stadio ultimo di apprendimento", si forma nuovo RNA ricco di guanina e citosina (pure complementari). Quest'ultimo tipo di acido è analogo, nella sua composizione, all'RNA ribosomico; ma non si sa se ciò abbia significato. Sembra comunque che la variazione nella composizione delle basi da A + U, per la capacità di apprendimento, a G + C per la conservazione, la fissazione di quanto appreso, sia importante.

Trattandosi poi di rendere più precise queste osservazioni, si partì dalle seguenti considerazioni: quando un animale ha imparato un ben preciso esercizio, ha a disposizione un corrispondente engramma, una specie di RNA inconfondibile. Quest'ultimo naturalmente rappresenta una parte minima dell'RNA totale presente nell'intero organismo, e anche dell'RNA cerebrale nel quale, oltre a quell'engramma particolare, sono "depositati" tutti gli altri engrammi possibili. In ogni caso — si pensava — era troppo poco perché potesse essere estratto, isolato e poi analizzato. E come poi si sarebbe riusciti a capire se erano state effettivamente isolate le molecole di RNA "giuste"?

Dovrebbe essere possibile effettuare questo test: dopo aver estratto dall'animale su cui si è sperimentato tutto l'RNA, e perciò anche quell'RNA specifico dell'esercizio che

l'animale ha appreso, introdurre questo RNA in qualche modo in un altro animale della stessa specie, che abbia per quanto possibile lo stesso "modo di vita" dell'animale-cavia, ma che non abbia imparato quell'esercizio. Allora questo animale dovrebbe subito "saper" fare bene l'esercizio, o almeno dovrebbe apprenderlo più rapidamente di un terzo animale che non sia stato addestrato e non abbia subito il trattamento del secondo.

5.03 Si addestrano i platelminti

Successi e contrarietà

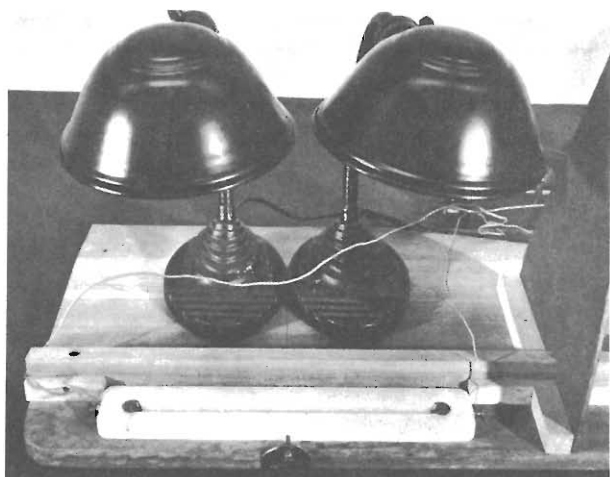
Per tali esperimenti un gruppo di ricercatori ha scelto le planarie, le quali sono platelminti che vivono nei ruscelli e nei fiumi, negli stagni e nei mari, e sovente s'introducono anche in acquario (figura a p. 230). Le planarie non sono lunghe più di due cm, sono formate da una coda e da una testa, e per il resto sono animali di costituzione estremamente semplice: il loro sistema nervoso ed il loro "cervello" sono molto primitivi, anche l'apparato digerente è semplificato, perché le planarie non hanno un vero stomaco. La loro produzione di acidi ed enzimi è molto bassa: e queste sono proprio le sostanze che negli animali superiori eliminano l'RNA estraneo prima che sia assimilato nelle cellule. Per questo le planarie sembrano specialmente adatte a ricerche ed esperimenti di trasmissione dell'RNA. Le planarie sono note per la loro capacità di rigenerazione, che è addirittura incredibile: se infatti si taglia di netto uno di questi platelminti, la testa forma di nuovo una coda, e la coda rigenera una nuova testa. A questo processo occorre un mese di tempo circa, ma poi si hanno due nuove planarie del tutto normali, sia come dimensioni, sia come funzioni. E poiché questo processo di rigenerazione si svolge per mitosi (vedi a p. 78) i due animali che si ottengono

rimangono geneticamente del tutto uguali. Si è approfittato di questa capacità di rigenerazione nei primi esperimenti di trasmissione della memoria. Si fece apprendere qualcosa ad una planaria, poi la si tagliò in due, ed a rigenerazione avvenuta si doveva vedere se tutti e due gli animali rigenerati ricordavano la loro lezione, oppure se solo la testa ricordava, oppure nessuno dei due. È però possibile che esseri viventi primitivi come le planarie apprendano qualcosa? È davvero piuttosto difficile insegnare loro, però in realtà vi si riesce.

Alle planarie non piace essere colpite all'improvviso da un forte raggio di luce: esse guizzano tutte insieme, il loro corpo si contrae. Ma poiché la luce palesemente non le danneggia, si abituano a questi disturbi provocati dalla luce ai quali si dimostrano sempre più indifferenti. Se si compiono tali esperimenti con sufficiente frequenza, alla fine le planarie non reagiscono assolutamente più.

Ma se alla luce abbiniamo un nuovo stimolo, che a loro è chiaramente spiacevole, per esempio una debole corrente elettrica, gli animali si comportano diversamente. Per ottenere questo risultato, lasciamo strisciare una planaria in un recipiente di plastica lungo e stretto, di cm 30 × 1, pieno d'acqua. Al di sopra di questo recipiente vi sono delle lampade che emettono lo stimolo luminoso, alle estremità del medesimo degli elettrodi metallici che possono essere collegati ad un generatore di corrente (figura a p. 232). Se si chiude il circuito con un interruttore, la corrente passa da un elettrodo all'altro attraverso l'acqua. A questo sbalzo di corrente la planaria reagisce sempre con una violenta contrazione. Ed ora abbiniamo gli stimoli.

Accendiamo per due secondi la luce, poi successivamente, per un altro secondo, aggiungiamo il passaggio di corrente, e dopo questo terzo secondo interrompiamo contemporaneamente luce e corrente. Ripetiamo l'esperimento ad intervalli di tempo op-



Semplice apparecchiatura per l'addestramento di platelminti. In primo piano la bacinella lunga e stretta, con i due elettrodi, piena d'acqua.

portuni, per circa due ore; i vermi reagiscono con contrazioni già nel periodo di tempo in cui si ha solo illuminazione, benché questa fosse prima loro indifferente. Questo perché hanno imparato a considerare la luce un "segnale" dell'elettrochoc che segue immediatamente. Se si prolunga l'esercizio per più giorni (fino ad un numero complessivo di 150 prove circa), si può fare in modo che gli animali reagiscano con contrazioni per quasi tutta la durata (il 90 % circa) dei due secondi d'illuminazione. Se invece si fanno esperimenti di minor durata, il periodo di tempo in cui essi si contraggono rappresenta solo il 50 % del periodo d'illuminazione.

A questo punto l'apprendimento è concluso. Gli animali addestrati sono tagliati in due, e si lascia avvenire il processo di rigenerazione. Dopo un mese si ricomincia ad addestrarli, facendo l'ipotesi che, naturalmente, essi abbiano "dimenticato" tutto; si registra se imparino più rapidamente, se cioè riescano a giungere ad un tempo di contrazione pari al 90 % del tempo d'illuminazione, pur con un numero inferiore di "lezioni". Il risultato è stupefacente. Le teste che hanno rigenerato una nuova coda non hanno pra-

ticamente bisogno di un nuovo addestramento: hanno ritenuto la lezione come gli animali non sezionati. E questo forse non stupisce eccessivamente, se si considera che il cervello primitivo di questi animali ha sede nella testa. Però anche le code, che dovevano rigenerare una testa completamente nuova, hanno un comportamento assai poco differente da quello delle teste; anch'esse ricordano quasi completamente quanto appreso dall'animale intero. *Il cervello di nuova formazione contiene immediatamente il vecchio engramma.*

Prescindendo da questo momento di sorpresa, dobbiamo ammettere che gli engrammi hanno un fondamento fisico e che evidentemente sono archiviati non solo nel cervello, ma in tutto il corpo di una planaria. Certamente questi risultati non contribuiscono ancora all'ipotesi dell'intervento dell'RNA nei fenomeni della memoria, a meno che non chiamiamo in causa i neoblasti. Questi sono cellule indifferenziate, quindi non ancora specializzate, che vagano in gran numero nel corpo delle planarie. Dopo che un verme è stato sezionato, i neoblasti si portano nella zona dove è avvenuto il taglio, e formano un complesso cellulare che costrui-

sce, rigenera, la parte mancante. I neoblasti sono molto ricchi di RNA e possono quindi contenere gli engrammi.

Possiamo fare un altro passo avanti considerando che, se l'RNA porta o costituisce gli engrammi, distruggendo l'RNA si distruggono gli engrammi. Una sostanza con tale potere di distruzione è la ribonucleasi (abbreviata in RN-asi), enzima che decompone l'RNA nei suoi costituenti, ma che non tocca il DNA e tutte le altre sostanze. (A p. 122 abbiamo già trovato il corrispondente dell'RN-asi, cioè la DN-asi, la quale ostacolava la "trasformazione", e perciò la trasmissione, dell'informazione genetica, fornendoci la prima prova che solo il DNA interviene come sostanza ereditaria.)

Se si fanno rigenerare i vermi sezionati in vasche in cui è stata aggiunta RN-asi, le teste che devono soltanto rigenerare le code mostrano di non risentirne: hanno ritenuto la loro lesione, i loro engrammi sono intaccabili dall'enzima. Invece le code che devono ricostruire con l'aiuto dei neoblasti una nuova testa ed un nuovo cervello si comportano diversamente: gli animali rigenerati dalle code hanno dimenticato quanto avevano appreso. Non hanno più ricevuto il vecchio engramma, che presumibilmente è stato distrutto dall'RN-asi. Analogamente si può suscitare "smemoratazza" iniettando una soluzione di RN-asi direttamente nella cavità del corpo degli animali già addestrati. Si è così raggiunta una prima indicazione sulla partecipazione dell'RNA ai processi di apprendimento e di archiviazione; ma è solo un'indicazione. L'RN-asi non attacca solo l'ipotetico RNA della memoria, ma anche l'RNA necessario alla comune sintesi delle proteine. Che l'effetto dell'RN-asi sia solo un generale indebolimento dell'attività dell'animale trattato?

Poiché gli esperimenti di rigenerazione e con l'RN-asi non soddisfacevano completamente, si tentarono le altre strade possibili, come quella di trasmettere ad un animale "non istruito" gli engrammi di animali già

addestrati. Una forma di trasmissione che ha suscitato recentemente grande impressione perché molto efficace, ma anche drastica e tutt'altro che delicata, è la *trasmissione della memoria mediante cannibalismo*. La planaria più comunemente impiegata in America (*Dugesia dorotocephala*), se spinta da una forte fame non esita a cibarsi dei suoi simili; perciò è facile ottenere che planarie affamate e non addestrate possano incorporare in sé la sostanza della memoria di altri animali già addestrati in modo che possiamo vedere se abbiano preso in sé l'engramma dei loro simili. Per avere un controllo, bisogna naturalmente nutrire altri vermi non addestrati con vittime anch'esse non addestrate. Il risultato è questo: gli animali alimentati con pezzi di vermi addestrati si dimostrano, fin dai primi giorni dell'addestramento, chiaramente superiori ai loro compagni cibati di vermi non addestrati. Essi apprendono la loro lezione quasi per giuoco, molto più rapidamente degli altri.

Questo spettacolare risultato fu per un certo periodo messo in dubbio, perché in un primo tempo non fu possibile ripeterlo in altri laboratori. Il dottor Morey, psicologo inglese, racconta così la sua irritazione nei confronti dei vermi:

«Evidentemente non si riesce, nemmeno con la miglior buona volontà, a spingere i platelminti inglesi, all'opposto di quelli americani, a cibarsi dei loro simili, anche quando sono conditi nel modo più gustoso. Questo significa che nel nostro paese le maniere gentili riescono ad imporsi persino tra i vermi, ma io ne sono contrariato, dato che contavo di eseguire altri esperimenti sui vermi basandomi sulle esperienze americane».

Col tempo queste difficoltà furono rimosse; i risultati di cui si dubitava furono confermati, ed oggi sono cosa certa. A ciò ha contribuito un nuovo metodo di sperimentazione, meno banale. Da centinaia di planarie addestrate (e, per controllo, da altrettante non addestrate) si è estratto tanto RNA da

poterlo iniettare nei singoli animali. I risultati furono perfettamente uguali a quelli ottenuti con l'altro metodo. Gli animali trattati con l'RNA delle planarie addestrate imparavano in modo chiaramente più rapido dei loro compagni che avevano ricevuto l'RNA degli animali non addestrati.

Deve perciò valere come provato dall'esperienza il fatto che l'RNA intervenga in modo determinante nei processi di apprendimento e di archiviazione nella memoria di quanto appreso. Ma come succede questo? L'RNA è solo la tavoletta di cera, oppure è l'engramma, oppure è l'una e l'altro insieme? Con gli esperimenti di alimentazione e di iniezioni, abbiamo effettivamente trasmesso quanto era stato appreso. Proprio l'engramma specifico, oppure le iniezioni di RNA, con un'azione più generica, hanno accresciuto le capacità di reazione e di apprendimento dell'organismo? Inoltre gli esperimenti compiuti sulle planarie possono dare informazioni solo inesatte, perché, in fin dei conti, la reazione su cui si è fatta la prova, che è una contrazione provocata da un segnale luminoso, non è una reazione insolita e specifica, ma potrebbe essere interpretata anche come una generica reazione di terrore. Forse gli animali erano solo diventati ipersensibili?

5.04 I ratti imparano meglio

Il contenuto specifico della memoria diventa evidente

Non si possono insegnare reazioni specifiche ed inconfondibili alle planarie, che hanno una costituzione troppo primitiva. Si cercarono allora altri animali più intelligenti che potessero essere oggetto di esperimenti, e ci si ricordò dei topi sapienti. Si può trasmettere anche a loro la memoria, ma con un inequivocabile atto di addestramento?

Dei molti e vari esperimenti condotti in diversi laboratori, ne sceglieremo uno, e lo

descriveremo particolareggiatamente. Esso deve, in sostituzione di molti altri esperimenti, dimostrare il risultato ed indicare anche con quanta cura occorra progettare e condurre queste prove, se si vuole che siano valide.

Otto ratti della stessa età, dello stesso peso e della stessa discendenza furono portati isolatamente in un piccolo recinto, dopo essere rimasti senza cibo per due giorni. Nel recinto si trovava una mangiatoia con due piccole pillole di cibo (del peso di 4,5 mg). Quando il ratto si fu abituato al nuovo ambiente, incominciò a correre qua e là, e naturalmente ispezionò anche la ciotola, mangiando immediatamente le due pillole. In quell'istante fu aperto, con un segnale ben udibile, un recipiente di riserva che stava sopra alla mangiatoia, in modo che un'altra pillola vi cadesse dentro. L'esperimento fu ripetuto più volte, sempre con lo stesso segnale, dapprima in rapida successione, poi ad intervalli maggiori. Successivamente, nel corso dell'addestramento, si fece udire il segnale quando il ratto si trovava ad una distanza, prima breve, poi maggiore, dalla ciotola del cibo. Nel frattempo, anche se il ratto esaminava continuamente la ciotola, non si facevano segnali e non si dava la pillola come ricompensa.

Nei primi quattro giorni la prova del segnale fu ripetuta per 200 volte; al quinto giorno, ultimo dell'esperimento, fu ripetuta 100 volte. Alla fine ogni ratto aveva imparato a dirigersi subito e rapidamente alla ciotola quando udiva il segnale, in qualunque punto del recinto si trovasse in quel momento; invece, senza il segnale, il ratto non badava assolutamente alla ciotola.

In questo periodo di tempo nove ratti, che dovevano servire come controllo, uguali ai primi, ricevettero anch'essi la stessa quantità di cibo con la stessa regolarità, ma senza alcuno speciale addestramento.

Dopo la conclusione dell'addestramento (o "condizionamento"), i ratti furono narcotizzati ed uccisi; poi, con un'operazione con-

dotta con la massima velocità possibile, fu estratto a ciascuno di loro da una certa regione del cervello un grammo di sostanza cerebrale. Al termine dell'estrazione e della difficile purificazione, rimasero tra 0,7 ed 1,1 mg di RNA. Lo stesso fu naturalmente fatto con i nove animali di controllo. Otto ore dopo, si poté iniettare l'RNA estratto: ogni campione fu iniettato nella cavità addominale di un ratto, in modo che l'RNA fosse assimilato molto rapidamente nei liquidi organici.

I "nuovi" ratti non addestrati prima dell'iniezione furono portati per 5 giorni, un quarto d'ora al giorno, nel recinto, perché potessero abituarvisi. In questo quarto d'ora si inviò due volte il segnale, senza però far cadere pillole di cibo; invece si sparse sul pavimento del recinto del mangime in polvere, perché i ratti rimanessero vivaci ed attenti. Ma soprattutto in questo modo si impedì che gli animali, magari per l'odore del cibo, si interessassero alla ciotola.

Ora poté iniziarsi il test vero e proprio. Si pose un ratto nel recinto in un angolo del quale si trovava la mangiatoia. Dopo che si fu ambientato per due minuti, si diede il segnale per cinque volte di seguito, facendo susseguire i segnali a distanza di almeno un minuto: questo, lasciando vuota la mangiatoia. Queste serie di cinque segnali furono effettuate complessivamente cinque volte: 4, 6, 8, 22 e 24 ore dopo l'iniezione, in tutto 25 segnali.

Si valutò come positivo che il ratto, nel giro di 5 secondi dopo l'invio del segnale, andasse a guardare nella mangiatoia, o almeno andasse a porsi in una stretta "zona di demarcazione" attorno alla mangiatoia stessa. Due osservatori, indipendentemente l'uno dall'altro, giudicavano se la prova fosse positiva o negativa; venivano approvate solo quelle prove in cui i due osservatori erano concordi. Per escludere qualsiasi prevenzione, i due osservatori non sapevano se gli animali da giudicare avessero ricevuto la sostanza cerebrale estratta dai ratti adde-

strati o da quelli non addestrati: infatti gli animali portavano delle lettere il cui significato sarebbe stato noto solo dopo la conclusione della prova.

Veniamo ai risultati: i ratti "di controllo", quelli cioè che avevano ricevuto l'RNA dei compagni non addestrati, non reagirono affatto ai segnali, o vi reagirono isolatamente, a caso. Degli 8 ratti (uno infatti fu scartato perché rimase immobile in un angolo della cassetta), in media ognuno reagì positivamente una sola volta su 25 segnali. Dei 7 ratti (anche di questi uno fu scartato) che avevano ricevuto l'RNA degli animali addestrati, in media ognuno corse 7 volte alla mangiatoia, quindi con una frequenza sette volte maggiore di quella dei ratti di controllo.

Questo non può essere avvenuto a caso, e ancor meno si può spiegare con un incremento generale di attività o di sensibilità dell'organismo. Perché mai i ratti, udendo un segnale che fino allora non aveva per essi nessun significato, avrebbero dovuto correre alla mangiatoia, che prima era loro completamente indifferente? Dobbiamo perciò ormai ammettere che con l'iniezione sia stato trasmesso agli animali un ben specifico contenuto di memoria, dato che si ricordano di un'esperienza fatta non da loro stessi, ma dai loro simili addestrati e poi uccisi!

L'esperimento sarebbe certo stato più impressionante, se ognuno dei ratti avesse mostrato una reazione positiva ad *ognuno* dei 25 segnali: ma questo sarebbe pretendere troppo. Già soltanto nel complicato processo di estrazione e purificazione per ottenere l'RNA, sicuramente molta sostanza va perduta; il rimanente può subire certi cambiamenti, per esempio nella forma delle molecole di RNA, i quali possono estinguere parzialmente l'engramma. Inoltre non ci si può affatto aspettare che dopo l'iniezione tutto l'RNA dalle cavità del corpo raggiunga il sistema nervoso e il cervello. Anche qui c'è da tener conto di perdite.

E ancora, come molto giustamente fa notare McConnell, bisogna tener presente un altro fatto importante, ossia che « un animale, anche quando apprende una cosa "semplice", assimila naturalmente migliaia e migliaia d'impressioni su tutta la situazione. Un ratto, in un semplice labirinto, non impara solo se debba girare a destra o a sinistra per giungere al cibo, ma oltre a ciò contemporaneamente "impara" che il labirinto ha un preciso colore, precise dimensioni (altezza, lunghezza e profondità), un certo odore, che il cibo è fatto in un dato modo, ed una incalcolabile quantità di altre cose ancora. Inoltre il ratto deve imparare a "fidarsi" dello sperimentatore, cioè a prendere confidenza con tutta la situazione dell'esperimento, altrimenti non mangerà e non imparerà. Tutti questi innumerevoli "microricordi" formano nel loro insieme ciò che il ricercatore definisce un "semplice processo di apprendimento" ».

Dopo tutto questo, ci si può davvero meravigliare che la prova delle iniezioni abbia portato a risultati così chiari, i quali hanno definitivamente provato che l'RNA contribuisce anche a fissare contenuti specifici di memoria, engrammi ben precisi.

I più recenti esperimenti hanno reso ancor più chiaro questo fatto. Questa volta vennero utilizzati, oltre ai ratti addestrati con i segnali acustici, altri ratti che avevano imparato a correre alla mangiatoia alla vista di un segnale luminoso. Di nuovo si iniettarono ad esemplari non addestrati l'uno o l'altro tipo di estratto cerebrale. Essi furono assoggettati durante l'esperimento a segnali acustici e luminosi, alternati irregolarmente. Gli animali che avevano ricevuto "l'RNA della luce" correvano alla mangiatoia, quando si avevano segnali luminosi, più spesso di quando si avevano segnali acustici; l'opposto succedeva ai ratti con "l'RNA del segnale acustico".

Per molti esperti è fuori dubbio che ci siamo avvicinati alla base fisica della memoria, alla natura chimica della "tavoletta di cera"

e dell' "engramma". Ma la "chimica della memoria" è ancora completamente all'inizio; dal lato biologico molecolare la conclusione è ancora molto lontana. La strada per arrivarvi è già in qualche modo tracciata: con metodi sempre migliori di estrazione e di purificazione, con condizioni sperimentali sempre più rigorose, un giorno potremo trasmettere effettivamente le singole molecole, i singoli contenuti della memoria, e potremo seguire con esattezza i loro effetti sugli organismi degli esseri che li ricevono¹.

5.05 I pesci rossi sono causa di sorprese

Dubbi sulla pillola della matematica

Ai pesci rossi si può insegnare, mediante deboli scosse elettriche (come per le planarie), a nuotare attraverso passaggi intricati, ed a superare ostacoli per raggiungere il luogo dove si trova il cibo. Questi insegnamenti sono ricordati per mesi; ma se subito dopo l'addestramento si pratica loro una puntura di puromicina, un antibiotico che arresta la sintesi delle proteine, i pesci dimenticano ciò che avevano appena appreso. Se invece l'iniezione è praticata un'ora o due dopo, non influisce affatto sulla memoria.

Ciò potrebbe eventualmente significare che la puromicina impedisce solo la trasmissione d'impressioni sensoriali molto recenti (la "memoria a breve termine") alla memoria permanente. Allora gli engrammi sarebbero ancorati in qualche modo non all'RNA in sé, ma a certe sostanze proteiche? Non è inverosimile, perché noi sappiamo (dal primo capitolo) che certi enzimi-proteine specifici sono codificati mediante l'RNA: perché non potrebbero esserlo anche le proteine specifiche della memoria?

Il lettore vede che nelle ricerche sulla memoria ci sono molti più lati oscuri che nella sintesi degli enzimi o nella regolazione del metabolismo. D'altronde gli sono chiari gli

esperimenti e le argomentazioni da esse scaturite, e vorrà sicuramente sapere se un giorno si potrà procedere tanto innanzi da aver la possibilità d'apprendere immediatamente con iniezioni o pillole certe nozioni, senza doverne fare esperienza e senza impararle di persona.

L'idea di poter imparare le lingue straniere o la matematica per mezzo di pillole è certo affascinante, ed ha conseguenze illimitate. Possiamo immaginare inserzioni sui giornali con testi di questo tipo: «Comprese per la patente di categoria B vendonsi a prezzi ridotti», «Le nostre iniezioni di ricordi del giro del mondo comprendono viaggi nei seguenti paesi...» o ancora un titolo in grassetto di questo tenore: «Il primo teste d'accusa al processo X è stato "fabbricato" con prodotti farmaceutici per la memoria». Sarebbe molto facile parlare di fatti nuovi, sensazionali e più clamorosi, ma in questa sede non conviene né un entusiasmo del tutto acritico, né un rifiuto radicale di queste idee: è bene tenere un atteggiamento prudentemente ottimista, o benevolmente scettico. Senza dubbio un giorno le molecole della memoria saranno isolate e si potranno trasmettere: c'è però da chiedersi

con quali risultati. Naturalmente, la prospettiva di comprare in farmacia delle esperienze e poi trangugiarle, e di fare senz'alcun rischio esperienze che potrebbero essere mortali, appare seducente. Ma si potranno trattenere durevolmente, come se fossero proprie, esperienze estranee? Di questa possibile eliminazione parleremo più a lungo nel prossimo capitolo sull'immunologia. Ad ogni modo, per ora, bisogna sempre ripetere le iniezioni, se si vuole mantenere per più di un giorno l'effetto dell'apprendimento.

E ancora: non potrebbe sorgere il pericolo che l'uomo disimpari a compiere delle esperienze da sé, facendo completamente assegnamento su quelle che gli possono fornire le pillole? Per quanto ricche queste possano essere, l'uomo con la memoria programmata d'ufficio non sarà mai in vantaggio rispetto a quello che impara da sé e che finisce con l'essere sempre il meglio adattato all'ambiente. Non è certamente per caso che la memoria individuale non è trasmessa ai discendenti. Se fosse vantaggioso trasmettere in eredità ciò che si è appreso, gli organismi nel corso dell'evoluzione da tempo lo avrebbero attuato.

¹ Le esperienze di cui si è parlato tendono tutte a dimostrare che esiste una correlazione tra la memorizzazione di un'informazione e la presenza di uno specifico composto chimico (RNA). Pertanto prendendo lo spunto da ciò alcuni ricercatori, tra cui ricordiamo gli americani W. Dingmann e M. Sporn, pensarono di verificare se l'alterazione del meccanismo della sintesi proteica potesse influire sulla memorizzazione di nuove informazioni. Addestrarono quindi un certo numero di ratti a uscire il più rapidamente possibile da un labirinto, quindi iniettarono loro un composto inibitore della sintesi proteica e li sottoposero nuovamente alla prova del labirinto: i ratti ritrovavano senza fatica la via verso l'uscita, imparata prima del trattamento. Alterando la sintesi proteica non si agisce sulle informazioni, già memorizzate. Stabilito ciò, procedettero a istruire un secondo gruppo di ratti a percorrere lo stesso labirinto; dopo di che li divisero in due gruppi, iniettarono il composto perturbatore a uno solo di essi e sottoposero tutti gli animali, "perturbati" o no, a una nuova prova consistente nel ritrovare la via di uscita in un nuovo labirinto, molto simile a quello in cui erano stati addestrati. Si veri-

ficò allora che i ratti "non perturbati" raggiungevano piuttosto rapidamente l'uscita mentre quelli "perturbati" commettevano un numero triplo di errori e non sapevano trarsi d'impaccio. Ripetendo più volte il percorso il loro smarrimento sembrava diminuire e il numero di errori diminuiva, il che significa che disturbando il meccanismo della sintesi proteica si diminuisce la capacità di memorizzare nuove informazioni. Se poi si continua ripetutamente a bloccare l'azione dell'RNA, si osserva negli animali trattati una diminuzione generale della memoria, ossia una diminuzione non circoscritta alla prova del labirinto; ma poiché tutto l'organismo risente dell'azione di questo blocco, i disturbi della memoria potrebbero essere dovuti a disfunzioni di carattere generale. Infatti se l'animale è "giù di forma" come si dice in gergo sportivo, apprende più lentamente, come è stato dimostrato iniettando, ad esempio barbiturici, mentre se "è in forma" apprende più facilmente, fatto anch'esso verificato sperimentalmente mediante iniezioni di stimolanti del sistema nervoso centrale come l'amfetamina, la caffeina e la stricnina. [N.d.R.]

6. Immunità e biologia molecolare

6.01 Insidie e difese

Che cosa significa "essere immuni"?

Leggiamo sovente che la vita è di continuo insidiata e minacciata, e che questa minaccia è un suo vero e proprio componente, una causa del perfezionamento degli esseri viventi. Certamente questo concetto, che ha un qualcosa di vero, non è nuovo al lettore. Può stupire che questa vita, minacciata senza pietà per miliardi di anni, sia continuata, probabilmente senza interruzioni, ed abbia potuto manifestarsi in innumerevoli forme ed individui.

È forse più giusto dire che le varie specie e gli individui sono continuamente esposti a pericoli. Catastrofi d'ogni genere, compagni aggressivi, animali d'ogni specie e soprattutto miriadi di batteri e di virus tendono ininterrottamente le loro insidie con malattie, lesioni e morte. Nonostante tutte le difficoltà, esistono milioni di specie con miliardi di singoli individui che abitano la Terra e di continuo profondamente la trasformano. Allora dobbiamo pur pensare che siano anche protette contro malattie e lesioni (non contro la morte, che tutt'al più può essere elusa generando discendenti nei quali "rivivere").

Effettivamente gli organismi si sono procurati da sé mezzi di difesa e di protezione, vari tanto quanto gli organismi stessi, sia unicellulari, sia piante, sia animali, sia uomo. Non è nostro compito elencare tutti i provvedimenti presi in tal senso, e per forza dovremo limitarci. A noi interessano solo i dispositivi biologici contro le infezioni, in

modo particolare quelli a disposizione dell'organismo umano e di quasi tutti i vertebrati. Essi sono:

la pelle, impenetrabile da batteri e virus;

i peli, di cui sono provviste le aperture del corpo; poi specialmente le secrezioni, come: il sebo;

le lacrime, che asportano particelle estranee intere;

la saliva; e soprattutto

i succhi gastrici che semplicemente scindono, demoliscono e rendono innocue una quantità di sostanze estranee.

Questi dispositivi di protezione sono evidentemente di uso universale e destinati a difendere da sostanze o corpi estranei d'ogni genere e non da qualche elemento soltanto, ad esempio dal solo bacillo della tubercolosi o dal solo virus della paralisi infantile. Inoltre esistono fin dall'inizio, sono ereditati e formati automaticamente durante lo sviluppo dell'individuo, e non soltanto quando è direttamente minacciato.

Tutti questi sistemi difensivi, però, precedono nel tempo quelli che interessano l'immunologia biologica. Ciò che la biologia intende per immunità, per difesa e per protezione immunitaria, compare soltanto quando le sopra citate barriere sono superate da batteri e da virus: allora tutta la scena cambia. L'uomo non è purtroppo immune (protezione) fin dall'inizio contro il tifo o la difterite, il morbillo o il tetano, però può diventarlo. Generalmente perciò l'immunità è acquisita solo nel corso della vita. Inoltre può essere acquisita in modi diversi, distinguendosi in immunità attiva e passiva.

L' "immunizzazione passiva" in generale è provocata artificialmente. Ammesso che in seguito ad una ferita si tema l'insorgere del tetano, che è pericoloso per la vita, si può iniettare nel circolo sanguigno del ferito un "siero", e precisamente un siero antitetanico preparato appositamente per combattere i bacilli agenti del tetano, rendendoli inoffensivi.

Un organismo invece subisce un' "immunizzazione attiva" quando supera l'infezione con le sue forze. Talvolta questo sistema, che ricorre alle risorse dell'organismo, può essere rischioso, poiché i bacilli — della tubercolosi, ad esempio — possono prendere il sopravvento e diventare letali. La scoperta della vaccinazione preventiva permette di diminuire il rischio, somministrando al corpo sano, generalmente già nel periodo giovanile, una debole dose di bacilli, o delle loro tossine, la cui pericolosità e virulenza è stata preventivamente ridotta. Simile infezione "artificiale" è garantita innocua (vedi alle pp. 270 e 271), tanto che sovente non compaiono nemmeno i sintomi della malattia. L'organismo produce da sé il proprio antisiero, e prende facilmente il sopravvento sui pochi e deboli agenti infettivi presenti. Inoltre, dopo aver "imparato" a produrlo — non ha importanza se con vaccinazione o senza — se ne ricorda ed è in condizione, qualora si ripeta l'infezione con bacilli della stessa qualità, di prepararne subito altro in grandi dosi. Evidentemente questa facoltà acquisita non è ereditata, proprio come la memoria individuale!

C'è un'altra, notevole differenza tra l'immunità ed i dispositivi di difesa non specifici: l'uomo che abbia contratto una volta la difterite o il tifo, il morbillo o il colera, rimane, quasi sempre, immune per tutta la vita *solo contro gli agenti delle malattie che ha superato*, non contro tutte le altre. Chi è guarito dal tifo, rimane esposto alla difterite, al morbillo e al colera esattamente come prima. L'immunità quindi non solo si acquisisce in un secondo tempo, ma è anche

strettamente specifica, non universale contro tutto quanto è estraneo e dannoso.

(Poiché ne riparleremo in seguito, qui accenneremo soltanto che le reazioni immunitarie sono alquanto "lunatiche": talvolta in certi individui — che possono essere sia uomini sia cavalli o conigli — non funzionano regolarmente come si potrebbe credere dopo quanto si è detto.)

Dopo aver delimitato un po' l'argomento sull'immunità, il contenuto del seguente capitolo viene quasi da sé.

1. Che cosa si può dire sulla specificità dell'antisiero o "sostanza di difesa"?

2. In che modo un organismo acquista la sua immunità?

Naturalmente le due questioni sono strettamente collegate, poiché proprio con il possesso di sostanze di difesa l'organismo diventa immune. Eppure la suddivisione in due temi è giustificata. Al punto primo si parla di sostanze, di sostanze di difesa, fabbricate in modo da rendere innocui certi veleni: sicuramente sono coinvolti processi chimici (biochimici). Al punto secondo, che riguarda l'acquisizione dell'immunità, entrano invece in azione cellule, organi e persino un intero apparato, l' "apparato immunitario": il problema diventa biologico. (Vedremo in seguito che la risposta ai due quesiti deve essere cercata in scene diverse di uno stesso avvenimento.)

Affrontiamo il problema possibilmente più facile, sul quale i capitoli precedenti ci hanno fornito elementi, cioè il primo: che cosa possiamo dire sulle sostanze di difesa?

6.02 Antigeni e anticorpi

Due fratelli nemici

Dobbiamo familiarizzarci con due nozioni fondamentali, senza le quali oggi non è più possibile una discussione sulla chimica e la biologia immunologiche. Riguardano due elementi che si condizionano a vicenda e

che non sono pensabili presi isolatamente. Uno è costituito da "materia estranea" — un batterio, un virus, una sostanza velenosa — proveniente dall'esterno (esogena) e che minaccia l'individuo: l'"antigene".

Antigene significa "generatore del contrario"; il nome stesso ci suggerisce il significato del secondo elemento, che è la "parte contraria", l'"anticorpo". Gli anticorpi sono sostanze che l'organismo minacciato, sia uomo sia animale, produce contro l'antigene, dunque sostanze proprie dell'organismo che si combinano coll'antigene rendendolo inoffensivo.

Una sostanza estranea che non provochi la formazione di anticorpi, per quanto pericolosa, non è assolutamente un antigene; d'altronde un anticorpo non si produce mai da sé, ma soltanto in presenza e sotto lo stimolo di un antigene. Non tutte le sostanze estranee sono antigeni, ma tutti gli antigeni sono sostanze o corpi estranei. L'anticorpo, o sostanza protettiva, da parte sua scende in campo solo contro l'antigene del momento e contro nient'altro. In altre parole l'antigene estraneo provoca nell'organismo la produzione di anticorpi interamente specifici, e la presenza di questi anticorpi rende l'organismo colpito immune contro l'antigene corrispondente, per tutta la vita oppure per un determinato periodo.

Inizialmente le due nozioni fondamentali di antigene e anticorpo erano comprensibilmente molto formali, e non spiegavano ancora nulla. Ma questa idea tanto geniale, semplice e logica si dimostrò presto molto feconda. Anzitutto fornì l'occasione di formulare una quantità di domande: quali e quante cose possono agire da antigeni?, che cosa sono gli anticorpi?, come e dove si producono?, che cosa succede tra antigeni e anticorpi?, da che cosa l'organismo minacciato riconosce un antigene "estraneo"? Contemporaneamente offrì anche la possibilità di verificare le risposte in modo sperimentale. Cercheremo di rispondere a

tutti questi interrogativi, anche cambiando l'ordine degli argomenti.

È preferibile prendere lo spunto dal fatto che antigeni e anticorpo sono strettamente specifici l'uno all'altro. Ad un antigene "corrisponde" dunque solo una specie ben determinata di anticorpo e nessun'altra, e viceversa (con qualche eccezione che discuteremo subito): esattamente come alla serratura corrisponde la chiave, al positivo il negativo, alla matrice l'impronta. (Qui vengono in mente gli enzimi-proteine specifici, i codoni e gli anticodoni, il repressore ed il gene regolatore; questi ricordi sono giuste associazioni, poiché sono fenomeni molto simili. Per questo motivo abbiamo posto la specificità in prima fila.)

Il presupposto della specificità risiede generalmente in una struttura molecolare particolare ed inconfondibile: nella sequenza degli aminoacidi, in quella dei nucleotidi, nelle forme di ripiegamento, e simili. Questi sono tutti, per il chimico, felici punti di partenza per la ricerca sperimentale.

6.03 Scena prima: il siero

Qui antigeni e anticorpi si incontrano

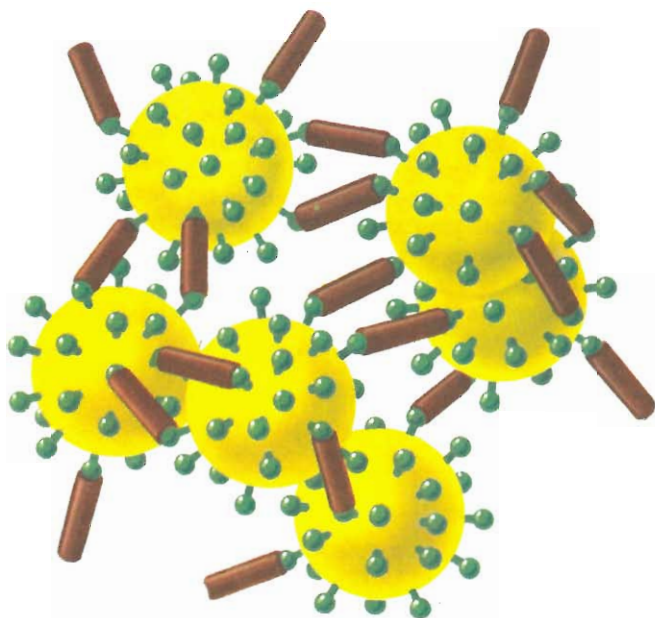
Prima di considerare la reazione chimica tra antigeni specifici e anticorpi specifici, diamo uno sguardo al teatro degli avvenimenti, cioè al sangue ed al sistema circolatorio. Il sangue è un liquido che prende il colore da milioni di globuli rossi (eritrociti), i quali contengono il pigmento emoglobina (vedi a p. 30). Oltre ai globuli rossi esistono anche, ma in misura molto minore, cellule della serie bianca (leucociti), e tutta una schiera di altri elementi, tra cui cellule che manifestano la fagocitosi, i macrofagi, di cui ci occuperemo in modo speciale. Tutte queste cellule sono sospese in un liquido, il "siero", dal quale si possono separare mediante coagulazione. Si ottiene così un siero privo di cellule: il siero del

sangue, che non contiene solo acqua ma, oltre a sostanze diverse, numerose proteine, dette "globuline" (chiamate così per la forma globosa sovente assunta dalle loro molecole). Esistono varie specie di globuline, distinte con lettere dell'alfabeto greco: alfa-, beta-, gamma-globuline. A noi interessano in modo particolare le gamma-globuline, ed una sottoclasse di beta-globuline, le β_2 -globuline.

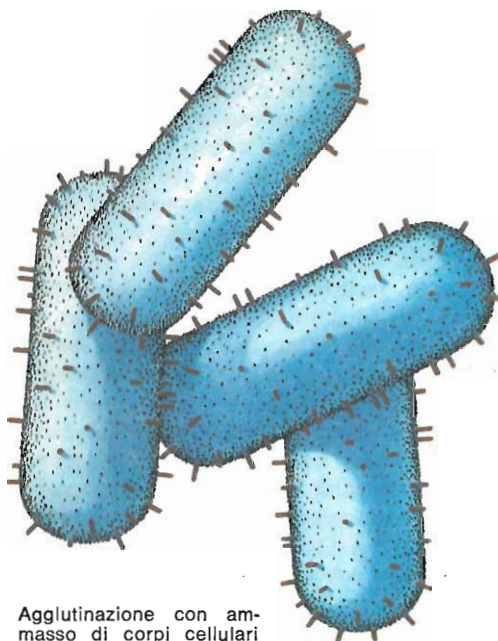
Le gamma- e β_2 -globuline non hanno nulla a che fare con gli antigeni e gli anticorpi, almeno finché qualche antigene non sia pervenuto nel sangue, cioè finché le barriere di protezione non specifiche, dalla pelle al succo gastrico, sono integre e funzionanti. Ma se queste barriere sono superate, le sostanze estranee entrano nel sangue. Questo fatto agisce come segnale per certe cellule, perché producano anticorpi specifici ("adatti") e li immettano in circolo. Intervengono così subito cellule che ci lasciano scorgere una seconda scena ed una possi-

bile risposta alla seconda domanda di p. 239. Incominciamo a vedere, anche se ancora confusamente, che i processi immunitari seguono probabilmente due binari. Ma rinviando l'argomento; in seguito studieremo quali siano queste cellule dell'organismo e come riescano a fabbricare anticorpi. Per il momento ci interessa soltanto la sostanza prodotta, l'anticorpo.

È stato dimostrato che non vi sono differenze chimiche e fisiche tra anticorpi e gamma-globuline. Sotto un certo aspetto, però, gli anticorpi si distinguono nettamente dalle gamma-globuline che esistevano nel siero già prima dell'infezione: gli anticorpi si combinano con gli antigeni, reagiscono nei loro riguardi "sierologicamente", e sono perciò sierologicamente diversi dalle globuline originarie (per questa ragione il siero contenente anticorpi è chiamato "antisiero"). Il siero di un organismo infettato contiene dunque, oltre alle proprie globuline originarie, antigeni ed anticorpi mescolati insie-



Precipitazione di antigeni in soluzione (gialli con sferette verdi) provocata da anticorpi (bruni).



Agglutinazione con ammasso di corpi cellulari batterici (blu) provocato da anticorpi (bruni).

me che reagiscono sierologicamente fra di loro.

Questa reazione cambia in modo sensibile secondo la natura dell'antigene penetrato nel circolo sanguigno.

Tutto è semplice quando nell'esperimento usiamo come antigene una sostanza solubile, che può essere una globulina estranea oppure un veleno estratto da batteri pericolosi, ad esempio la tossina del tetano ottenu-

ta dal batterio *Clostridium tetani*. Se mescoliamo la tossina ad un antisiero proveniente da un animale infettato in precedenza (l'esperimento può essere eseguito in provetta, al di fuori di ogni organismo vivente), si forma, per un processo di *precipitazione*, una sostanza bioccoluta detta *precipitato* (vedi figura a p. 241).

Se invece dell'estratto di antigene usiamo il batterio medesimo, avviene qualcosa di diverso. Le cellule batteriche, fin qui libere nella soluzione, vengono ammassate in grumi, subiscono un' "agglutinazione". Il prodotto della reazione, detto "agglutinato", si deposita presto sul fondo (vedi figura a fianco).

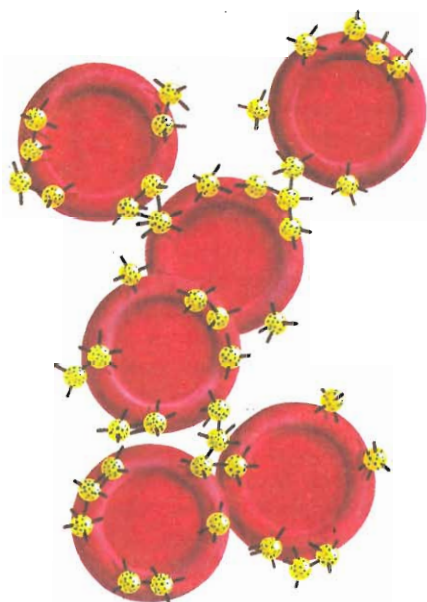
Un metodo variato e particolare, che ha prestato ottimi servizi alla sierologia per la sua esattezza, è l' "emo-agglutinazione". Si estrae come nel primo caso la sostanza tossica, che però si lascia fissare alla superficie di globuli rossi in sospensione. Se si aggiunge l'antisiero adatto, questa volta agglutinano i globuli rossi, provocando una emo-agglutinazione (vedi figura a p. 243).

In tutti e tre i casi gli antigeni pericolosi non vagano più liberi ed indipendenti nel siero, perché sono stati trasformati dagli anticorpi in grossi complessi insolubili. Sotto questa forma i precipitati, o gli agglutinati, possono essere divorati e digeriti dai macrofagi del sangue: sono diventati inoffensivi. Ma su questo argomento ritorneremo dopo.

La capacità di provocare precipitati o agglutinati risiede in una prerogativa degli anti-

Reazioni tra antigeni ed anticorpi:

1. Antigene libero	+	anticorpo (antisiero) → precipitazione
2. Antigene unito alla cellula	+	anticorpo (antisiero) → agglutinazione
3. Antigene fissato ai globuli rossi	+	anticorpo (antisiero) → emo-agglutinazione



mo-agglutinazione. I globuli rossi del sangue, la superficie dei quali si sono fissati gli antigeni (gialli), si raggruppano per effetto degli anticorpi (bruni).

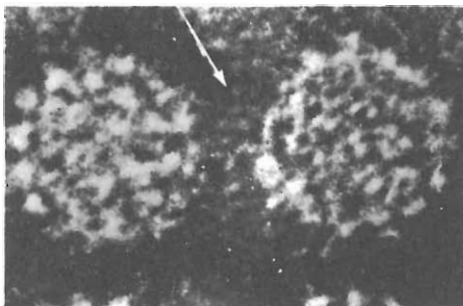
corpi. Questi infatti sono bivalenti (= a legame duplice). Una molecola di anticorpo può unirsi contemporaneamente a due molecole di antigene. Gli antigeni sono invece generalmente polivalenti (= a legame plurino), e possono unirsi a molte molecole di anticorpi. Tutto ciò non ci fornisce ancora molte spiegazioni sulla specificità, ma ci chiarisce almeno come possa prodursi un precipitato. Per il tramite delle molecole bivalenti degli anticorpi, le molecole dell'antigene vengono collegate ed ammassate in un enorme e complesso reticolato che non può rimanere in soluzione a causa delle sue dimensioni, e quindi diventando insolubile precipita.

La reazione che si nota in provetta (vedi la figura qui a fianco), e che consiste in un intorbidamento più o meno regolare dovuto, secondo i casi, al precipitato o all'agglutinato, si può rendere più evidente

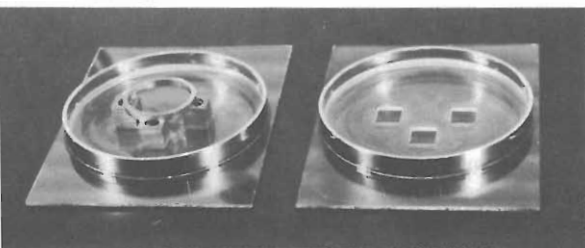
se si ripete l'esperimento in un mezzo nutritivo semisolido, gelatinoso, meglio se su una di quelle piastre di agar che abbiamo usato per l'allevamento dei batteri. Su queste piastre, che fondono facilmente, si possono imprimere due fori. Uno viene colmato con soluzione di antigene, l'altro con l'antisiero corrispondente (un siero diverso non reagirebbe). Dai due centri le sostanze si diffondono lentamente in tutte le direzioni, ed in una zona intermedia tra i due fori s'incontrano e precipitano. Una linea fine e nitida indica il precipitato (vedi figure a p. 244).

A questo punto sorgono due obiezioni.

1. Il fronte di precipitazione non corrisponde esattamente alla zona di contatto. Dove capita che molti anticorpi incontrino pochi antigeni — cioè nelle vicinanze del foro contenente l'antisiero — il precipitato è scarso o nullo. Lo stesso avviene nei pressi della fonte degli antigeni. Solo in una zona intermedia, in cui le sostanze che reagiscono vengono a trovarsi in concentrazioni equivalenti, si forma un precipitato netto e massimale. Ma equivalente significa "di ugual valore" o "corrispondente" (sotto un certo rapporto), e non uguale; perciò la reazione massima avviene non dove esistono uguali concentrazioni, bensì dove queste sono equivalenti. Che cosa significa con esattezza?



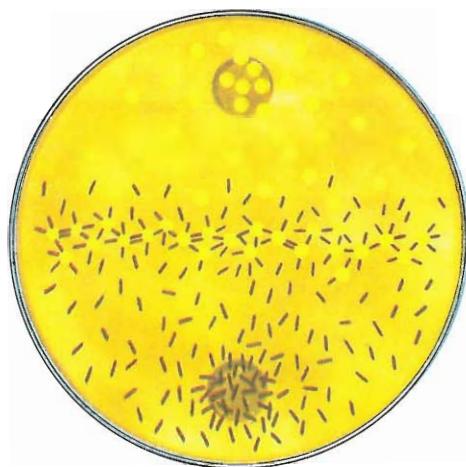
Un anticorpo che fa da ponte tra due particelle virali sferiche fotografato per la prima volta al microscopio elettronico.



Fabbricazione di una piastra di agar con i fori in cui saranno sistemati l'antigene e l'antisiero.

Se si calcola la quantità delle singole sostanze che reagiscono tra di loro nella zona di equivalenza, si vede che stanno fra di loro nel rapporto di numeri piccoli ed interi, perciò come 1:1, 1:2, 1:3, 2:3, eccetera. Il chimico definisce "stechiometrici" questi rapporti, che sono un segno sicuro che tra i due composti intervengono legami chimici, i quali possono essere analizzati con metodi ormai sperimentati. Perciò precipitazione ed agglutinazione possono ricondursi a reazioni di legami chimici.

2. Non sempre tra antisiero (anticorpi) ed



Piastra d'agar con due fori. Sopra si trovano gli antigeni (gialli), sotto l'antisiero (bruno). Entrambi si diffondono in tutte le direzioni ed al centro s'incontrano facendosi precipitare a vicenda.

antigene si forma solo una linea di demarcazione; talvolta compaiono numerose linee. Lo vediamo nella figura a p. 245, a sinistra. In questo caso sono stati posti di fronte sulla medesima piastra di agar un antisiero (siero antidifterico di cavallo) e due antigeni, I e II, entrambi di tossine ditteriche. Si vede chiaramente che tra l'antisiero e l'antigene II si sono formate parecchie linee di precipitazione. Il fatto si spiega perché l'antigene II è formato da una "tossina grezza", impura, cioè con vari componenti, mentre l'antigene I è una frazione altamente purificata che, secondo ogni apparenza, contiene soltanto più un singolo componente. Tutto ciò è pro o contro un'alta specificità della reazione sierologica? (Noi vorremmo mediante la specificità, penetrare nella chimica immunologica.) Si può rispondere affermativamente se nell'antisiero dell'esperimento eseguito sono presenti diverse specie di anticorpi, negativamente in caso contrario. Se era presente una sola specie di anticorpo, dato che vi è stata reazione con le numerose frazioni dell'antigene II, la reazione sarebbe non specifica. Se invece c'erano diversi anticorpi nell'antisiero, la reazione sarebbe altamente specifica, perché ciascuno ha reagito con la frazione corrispondente dell'antigene II provocando parecchie linee di precipitazione; con l'antigene I, che è unitario, solo una frazione di antisiero è interessata, le altre rimangono inattive, la linea di precipitazione è unica. Ma se non riusciamo a sapere qualcosa di più sugli anticorpi, non possiamo rispondere al quesito che ci siamo proposti.

6.04 Antigeni e fagocitosi

Struttura e destino

Fin dall'inizio abbiamo rilevato che antigeni ed anticorpi si condizionano a vicenda, e che uno definisce l'altro. Per avere notizie sulla specificità degli anticorpi, dobbiamo

ventualmente rivolgerci agli antigeni. Chiediamoci quindi:

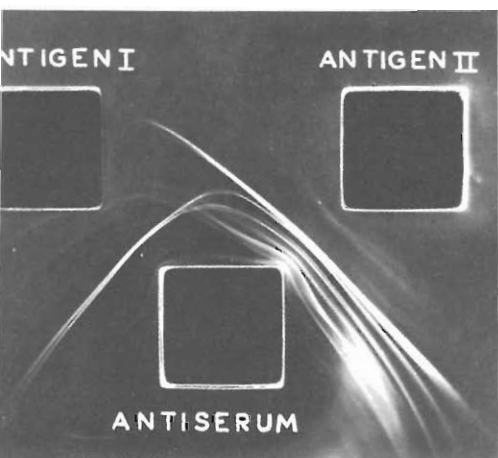
1) qual è la caratteristica di una sostanza, di una particella virale, di un batterio, che mette l'organismo colpito in condizione di liberare anticorpi? Per mezzo di che cosa una sostanza diventa antigene?

2) fino a che punto un antigene può e deve modificarsi chimicamente perché venga prodotto un anticorpo corrispondentemente modificato? In altre parole: fin dove si spinge la specificità antigene-anticorpo?

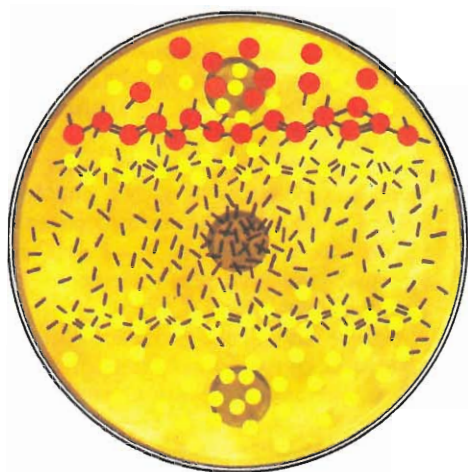
3) a) possiamo rispondere con sicurezza che non è la composizione chimica di una sostanza quella che la rende antigene. All'inizio si credeva che gli antigeni appartenessero solo alla classe delle proteine. Nel frattempo si è appreso che anche gli idrati di carbonio, i grassi, sostanze appartenenti a quasi tutte le classi di composti chimici possono funzionare da antigeni. È stata un'acquisizione molto importante per la ricerca, poiché le proteine, non fosse altro che per il loro alto peso molecolare, sono assai più difficili da trattare degli idrati

di carbonio, soprattutto degli zuccheri (polisaccaridi). Proprio a questi ultimi appartengono gli antigeni oggi meglio conosciuti. Sorprende che *quasi tutti gli antigeni siano sostanze ad alto peso molecolare*. Le piccole molecole, in sé, sono senza effetto (probabilmente perché l'organismo può eliminarle facilmente), fuorché quando sono agganciate ad una molecola più grande. Tuttavia le dimensioni della molecola, o meglio del complesso molecolare, non sono sufficienti a spiegare la facoltà di comportarsi da antigene. Bisogna ancora aggiungere un fattore: la sostanza considerata deve essere "fagocitabile". Che cosa intendiamo dire?

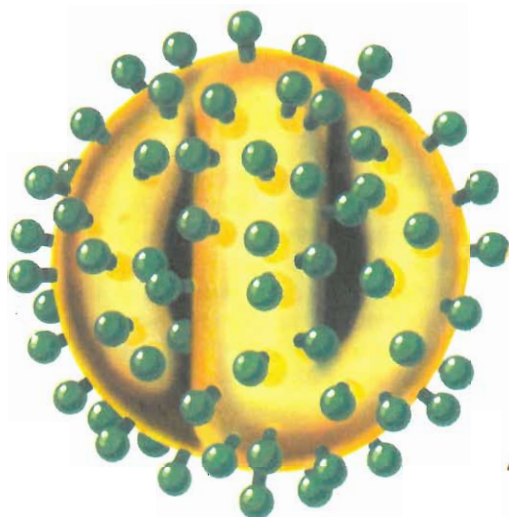
Molecole di piccole dimensioni come l'urea, l'acido lattico o il glucosio sono generalmente disciolte nei liquidi dell'organismo, sangue compreso, e sono anche assunte dalle cellule allo stato di soluzione. Attraversano in modo più o meno passivo gli strati esterni della cellula — forse mediante canali sottilissimi già descritti — e penetrano nel suo interno. Questa via è preclusa alle mo-



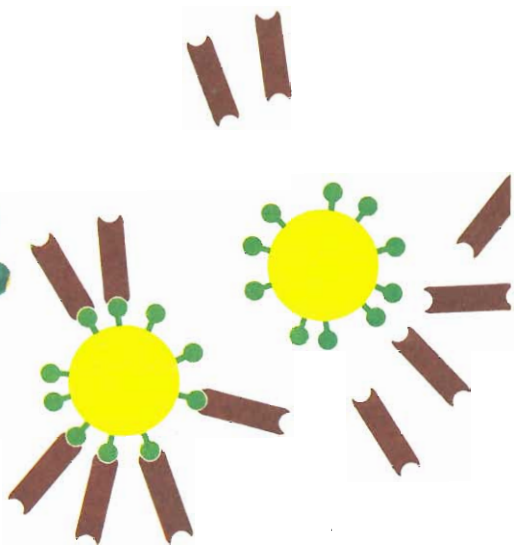
Tra l'antisiero e l'antigene I (purificato) si produce solo una linea di precipitazione, mentre tra l'antisiero e l'antigene II (impuro e costituito da diversi componenti) se ne producono diverse. (Fotografia).



Schema del caso dell'antigene II della figura precedente. Nella parte superiore l'antisiero posto al centro va incontro ad un miscuglio di due antigeni, i quali migrano a velocità diverse. Si formano quindi due linee di precipitazione.



Proteina (gialla) ricoperta da numerose catene laterali S_1 (verdi).



Se tutta la superficie della molecola proteica è occupata da S_1 , si forma solo dell'anti- S_1 .

lecole più grosse, disciolte o non disciolte, ed alle particelle di maggiori dimensioni. Queste vengono invece "divorate" con la fagocitosi, processo che abbiamo descritto a p. 177. Una sostanza per fungere da antigene deve essere fagocitabile; deve finire nell'interno di determinate cellule, e soltanto qui, e non nel siero, può provocare la formazione degli anticorpi.

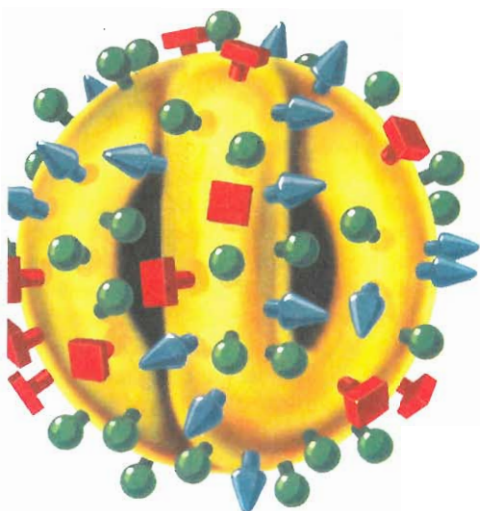
Queste cellule sono i macrofagi, le cellule divoratrici incontrate a p. 240, che compariranno nella Scena seconda. Non volendo ora seguire il destino degli antigeni fagocitati, lasciamo ancora un momento in disparte queste cellule.

È dunque chiaro che gli antigeni sono sostanze ad alto peso molecolare e fagocitabili. Quindi si può provare a modificare leggermente questa grande molecola o ad aggiungervi nuovi (piccoli) gruppi, per vedere se si formino anche altri anticorpi. E con questo siamo giunti alla domanda b).

Questi esperimenti fondamentali sono stati eseguiti da Karl Landsteiner, che ha lavorato usando come antigeni delle proteine. Se si

iniettano nel circolo sanguigno di un organismo proteine estranee, contro queste si generano anticorpi che chiameremo anti-proteine (anti-P).

Le proteine sono conosciute come sostanze abbastanza reattive, per mezzo delle loro catene laterali (i residui $R_1, \dots, R_{20}$ del primo capitolo). A questi residui si può facilmente aggiungere una catena laterale supplementare che diremo S_1 . Se iniettiamo l'antigene provvisto di S_1 ad un animale da esperimento, oltre all'anti-P si forma anche un anticorpo anti- S_1 , che reagisce solo con S_1 , e dimostra perciò un'alta specificità per S_1 . Se invece di una sola vengono aggiunte molte di queste catene laterali S_1 , tanto da occupare e ricoprire tutta la superficie della molecola di antigene-proteina iniziale, non si forma più in questo caso dell'anti-P, bensì soltanto dell'anti- S_1 (vedi figura in alto a destra). Naturalmente si può anche ricoprire la superficie (fig. a p. 247) dell'antigene-proteina iniziale con le più disparate catene laterali: oltre che con S_1 , con S_2 , S_3 e così via. Immediatamente si ottengono gli anti-



Molecola proteica (gialla) ricoperta questa volta la tre differenti specie di catene laterali.

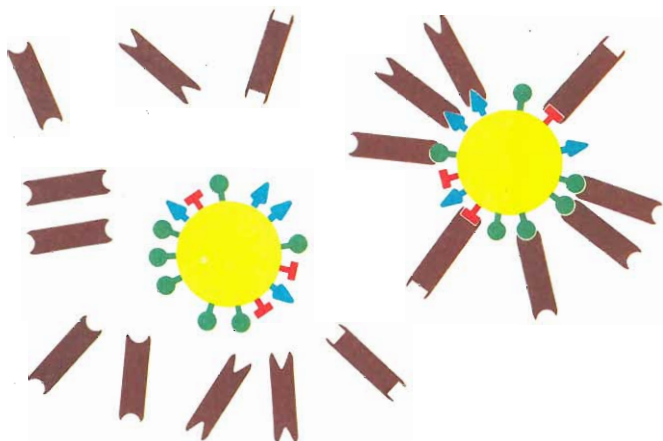
corpi anti-S₁, anti-S₂, anti-S₃... eccetera. Tutto questo significa che un antigene è formato:

1. da una catena fondamentale ad alto peso molecolare, che considereremo "portatrice dell'antigenicità" (nel nostro caso dell'antigenicità per anti-P);
2. da uno o più piccoli gruppi molecolari, i quali causano e definiscono la specificità. E siccome definire significa anche determina-

re, sono detti "gruppi determinanti" (nel nostro caso da S₁ a S₃).

Dato che un antigene può portare parecchi gruppi determinanti (vedi figura a p. 248), non potrà mai esistere un anticorpo "universale"; dovranno formarsi tante differenti specie di anticorpi, almeno quanti sono i gruppi determinanti. Questo sovente provoca la formazione di intere famiglie di anticorpi, in cui ogni membro è destinato con stretta specificità ad un'unica specie di gruppo determinante, combinandosi chimicamente con questo e *solo con questo*. (La "famiglia" di anticorpi può anche ingrandirsi. Se una catena laterale è molto lunga, il gruppo di piccole molecole dell'anticorpo che vi si adatta può essere totalmente specifico, cioè estendersi a tutta la lunghezza di S₂. Sono però possibili varie gradazioni, in quanto la specificità dell'anticorpo può estendersi talvolta solo a tre quarti, metà o ancora meno della catena di antigene; ma sono questioni particolari che possiamo tralasciare.)

Ancora più vasti e particolareggiati sono stati gli esperimenti con antigeni non proteici, o almeno in cui la frazione proteica è d'importanza secondaria. Ritorniamo all'*Escherichia coli*, il nostro animale domestico, alle *Salmonelle* ed ai pneumococchi che sono stati utilizzati per i primi esperimenti di trasformazione (vedi a p. 121). I pneumococchi



Per la proteina della figura precedente sono prodotti gli anticorpi anti-S₁, anti-S₂, anti-S₃.

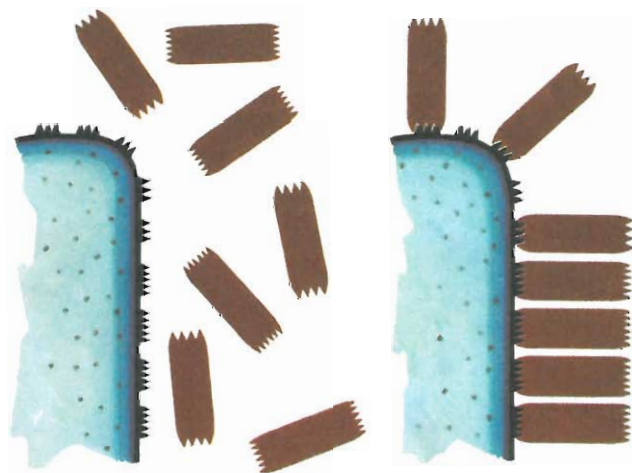
si distinguono in una forma S (*smooth*, liscio), infettiva e con capsula, e in una forma R (*rough*, ruvido), inoffensiva e senza capsula. Nell'esperimento di trasformazione si iniettarono ai topi — non immunizzati — dosi tali di batteri S da sopraffarli ed ucciderli (vedi figure a pp. 122 e 123).

Negli esperimenti immunologici si usano dosi molto più piccole, perché l'animale da esperimento deve sopravvivere per produrre anticorpi. Si scoprì ben presto che la sostanza che forma la capsula (o una frazione importante di questa sostanza) agisce da antigene suscitando la produzione di anticorpi: anche per questo la forma R è inoffensiva. Questa sostanza capsulare ha una composizione assai complessa; vi partecipano proteine, zuccheri (polisaccaridi) e sostanze simili ai grassi (lipoidi). Si può chiamarla con esattezza una polisaccarid-lipoid-proteina. In questo complesso però solo i polisaccaridi agiscono da gruppo determinante, e non i lipoidi e le proteine. La loro prerogativa dipende dalla posizione superficiale degli zuccheri (vedi figura sotto), che sporgono "all'esterno" come i denti di un pettine, quindi reagiscono per primi, men-

tre i lipoidi e le proteine, che giacciono in strati più profondi della capsula, sono in genere "ricoperti".

I singoli costituenti che possono entrare a far parte della frazione polisaccaridica sono 12 zuccheri differenti. Ma per ogni tipo di capsula solo 3 o 5 sono usati insieme, raggruppati in unità che si ripetono regolarmente. Per ciascuna di queste combinazioni di 3 o da 5, si forma ogni volta un anticorpo con reazione sierologica, un "sierotipo". La sostituzione di anche una sola molecola degli zuccheri con un'altra di diversa struttura modifica il gruppo determinante e richiama la formazione di altri anticorpi, esistono centinaia di questi sierotipi. La descrizione delle loro parentele, che lascia scorgere correlazioni genetiche ed evolutive, richiederebbe un intero volume (vedi figura a p. 249).

Importante per il nostro argomento è invece il fatto che ritroviamo sempre, anche con le capsule batteriche, quanto vale con gli antigeni-proteine: l'antigene è un complesso ad alto peso molecolare, mentre i suoi gruppi determinanti, secondo i quali si formano gli anticorpi specifici, sono piccoli frammen-

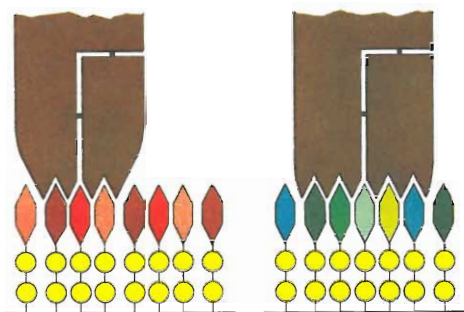


I gruppi determinanti della capsula di batteri sono polisaccaridi: sporgono come i denti di un pettine all'esterno e reagiscono con gli anticorpi (indicati con colore bruno).

i del complesso o piccole molecole annesse, in sé assolutamente innocue all'organismo colpito, come gli zuccheri delle poliacarid-lipoid-proteine.

Si può verificare benissimo con il seguente esperimento che la descrizione corrisponde esattamente ai fatti: si mettono insieme antigeni ed anticorpi (corrispondenti) provocando la precipitazione del complesso antigene-anticorpo ed ottenendo un precipitato insolubile (vedi figura a p. 241); poi si aggiungono in sovrabbondanza gruppi di determinanti isolati ("liberi"). (Non ci sono difficoltà: con gli antigeni-proteine, secondo il metodo Landsteiner, abbiamo aggiunto carne laterali supplementari; ora basta usare l'eccedenza non combinata. Con gli antigeni della capsula batterica possiamo scindere gli zuccheri dalla superficie con procedimento chimico, isolarli ed aggiungerli al precipitato dell'esperimento.)

Nel precipitato i punti d'attacco degli anticorpi (bivalenti) sono "occupati" dai loro gruppi determinanti portati dagli antigeni. Adesso i gruppi determinanti "liberi", che hanno la medesima struttura dei precedenti, si contendono anche loro i punti d'attacco. Quando i gruppi liberi (isolati) sono in eccedenza, sono in grado di combinarsi con i punti d'attacco degli anticorpi, sostituendo quelli dell'antigene. Si ottiene come risultato che gli anticorpi, che sono solo bivalenti e si combinano solo con due gruppi determinanti isolati, formano composti di dimensioni relativamente piccole, mentre i gruppi determinanti uniti agli antigeni rimangono di nuovo senza anticorpi. Ne consegue una dissoluzione di tutto il complesso reticolato, il precipitato, cosicché antigeni (con gruppi determinanti non occupati) e anticorpi (uniti a gruppi determinanti singoli e non a molecole complete di antigeni) tornano in soluzione. Con l'aggiunta di gruppi determinanti isolati, in sé innocui, abbiamo reso nuovamente pericolose molecole di antigene in precedenza neutralizzate con un precipitato.



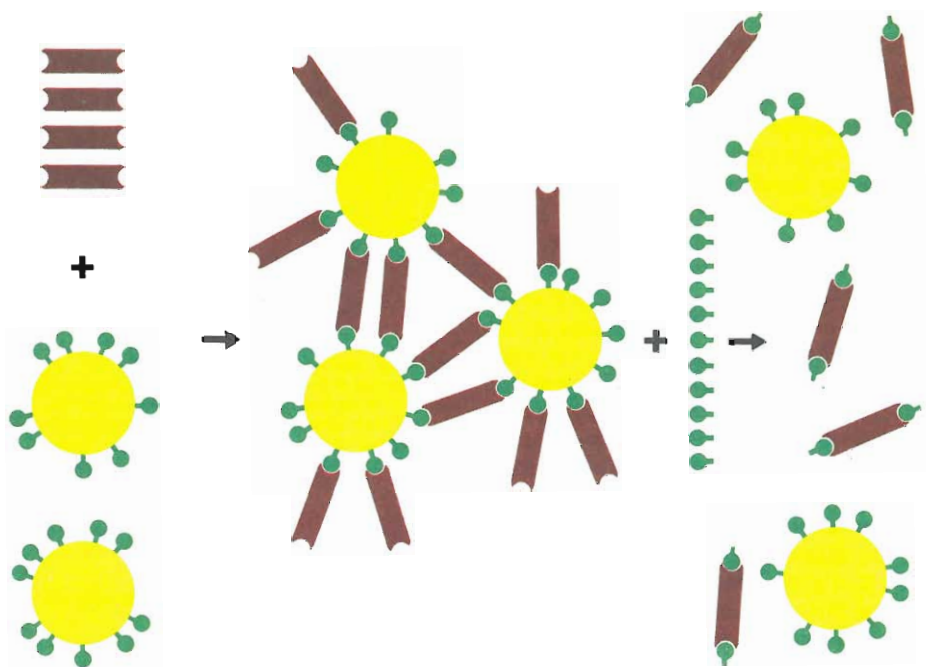
Schema della struttura intima di una capsula. Sui lipoidi e le proteine (gialli e collegati da trattini) s'impiantano i polisaccaridi (rossi: in gruppi da tre; verdi: in gruppi da cinque) cui corrispondono nella forma gli anticorpi (bruni). Gli anticorpi derivano dall'unione di sotto-unità.

6.05 Anticorpi

Le gamma-globuline sono fabbricate in modo specifico

Forniti di nuove cognizioni, ritorniamo agli anticorpi. Ora sappiamo che la specificità della molecola di antigene è dovuta ai gruppi determinanti, i quali s'inseriscono in punti d'attacco "adatti" della molecola dell'anticorpo formando un precipitato o un agglutinato. I gruppi determinanti possono appartenere a qualsiasi classe chimica di sostanze, mentre gli anticorpi sono, con sorprendente costanza, delle proteine, delle gamma-globuline. Ma come è possibile che queste globuline si adattino con tanta precisione e specificità ai mille, centomila e più ancora gruppi determinanti?

Non possiamo ancora rispondere con assoluta precisione. Tuttavia conosciamo già un buon numero di particolari (sostanziali), che cercheremo di coordinare per offrire un'immagine almeno approssimativamente esatta. Incominciamo dal fondo ed esaminiamo le dimensioni delle molecole degli anticorpi. Per uno strano caso ne esistono nuovamente di due tipi. Un tipo possiede un pe-



Mescolando antigeni provvisti di gruppi determinanti con anticorpi (a sinistra) si ottiene un precipitato (in centro). Con determinanti isolati in eccedenza il precipitato si ridiscioglie (a destra).

so molecolare di circa 1 milione, esattamente come le gamma-globuline non specifiche di un organismo non infettato (alla centrifugazione si dimostrarono "particelle da 19-S"). Questi grossi anticorpi compaiono prestissimo, subito dopo l'infezione, ma non sono molto efficaci. L'altro tipo è molto più piccolo, ed il suo peso molecolare raggiunge solo 160.000 ("particella da 7-S"). Comparire più tardi, ma è molto più attivo come anticorpo. (Non se ne conosce ancora bene il motivo; dovremo ripensarci quando tratteremo della produzione degli anticorpi.) Ma 160.000 è già un peso molecolare abbastanza elevato; molti enzimi-proteine sono al di sotto di questa cifra.

Se teniamo presente:

1. che una molecola di anticorpo è biva-

lente, cioè offre solo due punti di legame o di attacco;

2. che entrambi questi punti d'attacco sono destinati a un ben definito tipo di gruppo determinante di un antigene e sono quindi tra di loro identici. Non stupirà allora che solo dall'1 % al 2 % della superficie complessiva della molecola dell'anticorpo sia "attiva" (cioè predisposta a combinarsi). Il rimanente 98 % può essere considerato senza importanza per quanto concerne il legame ad un gruppo determinante.

Con enzimi in grado di scindere le proteine si riesce a scomporre la molecola di anticorpo dal peso di 160.000. Se ne ottengono 4 frammenti: 2 catene polipeptidiche "leggera" dal peso molecolare di circa 20.000 e 2 "pesanti" dal peso ciascuna di circa 60.000. Ogni catena presa singolarmente

non possiede più facoltà antigeniche; tuttavia, intenzionalmente con questa scissione non abbiamo distrutto l'anticorpo, lo abbiamo soltanto scomposto in 4 sotto-unità secondo un piano prestabilito. Le parti infatti con molta attenzione possono essere ricomposte, ottenendo di nuovo un anticorpo perfettamente funzionante.

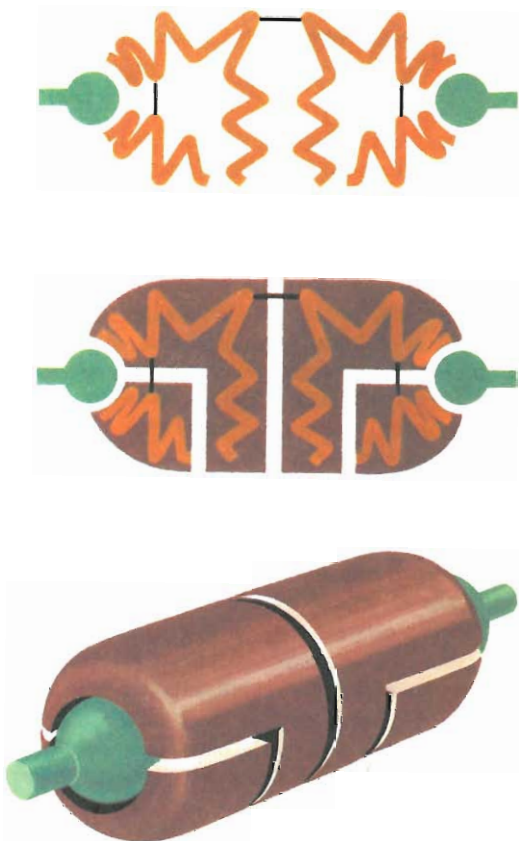
Cerchiamo di ricostruire con un modello l'incastro di queste sotto-unità. Non è ancora sicuro se il gruppo d'attacco (di presa) risieda in una delle piccole sotto-unità, oppure a cavallo tra una piccola ed una grossa, come indicato dal modello. Ma in qualunque modo per il legame con un gruppo determinante ha valore la struttura di superficie in due punti strettamente delimitati della molecola complessiva.

Dalle considerazioni sulle proteine risulta che una catena polipeptidica è raramente distesa. Generalmente è attorcigliata ad α -helix, ed inoltre ripetutamente ripiegata, ramificata, spezzata a gomito, eccetera. Si può facilmente immaginare come da queste pieghe e flessioni possano modellarsi le impronte delle più varie superfici. Si tratta con esattezza dello stesso procedimento che genera le superfici specifiche per il sostrato degli enzimi, come abbiamo visto nel primo capitolo. Qui sono superfici specifiche della molecola proteica adattate ad un antigene, esattamente corrispondenti (complementari) alla struttura del gruppo determinante che devono accogliere, come la chiave corrisponde alla serratura e lo stampo all'impronta (vedi figura a fianco).

Le possibilità di conformazione sono moltissime, tanto più che probabilmente ad un punto d'attacco partecipano due catene polipeptidiche (una sotto-unità leggera ed una pesante), e che entrambe le catene possono spostarsi l'una rispetto all'altra provocando la formazione di nuovi modelli.

Ora si presenta il difficile problema di sapere se il gruppo determinante "conia" veramente la superficie d'attacco conferendole la struttura adatta, e, in caso affermativo,

come e quando ciò si produca. Un problema ne crea un altro. Se nei modelli di superficie sono coinvolte le pieghe delle proteine, queste allora sono strutture terziarie o quaternarie. Ma dopo quanto abbiamo detto a p. 31, sappiamo che entrambe queste strutture sono definite esclusivamente dalla struttura primaria della proteina, e perciò dalla sequenza degli aminoacidi stabilita geneticamente. E come potrebbero allora i gruppi determinanti dell'antigene avere la possibilità di modificare, in un secondo tempo, la struttura terziaria e quaternaria in modo da renderla adatta a funzionare da pun-



Modello di anticorpo costituito da 4 sotto-unità (bruno). Possiede due punti di attacco, di presa, per un particolare gruppo determinante (verde).

to d'attacco? Questa modificazione dovrebbe essere duratura: si pensi che l'individuo che ha superato l'infezione differica rimane immune contro la differite per tutta la vita e quindi dispone per tutta la vita degli anticorpi necessari! Questo problema sembra insolubile con i soli metodi chimici, tanto più se consideriamo che questa "coniazione", questo "modellamento" degli anticorpi non avviene senza la partecipazione di cellule viventi. Dobbiamo quindi superare le barriere della chimica immunologica per inoltrarci nella biologia immunologica.

6.06 Scena seconda: l'apparato immunitario

I macrofagi combattono gli antigeni

Le reazioni biologiche immunitarie sono certo più complicate di quelle chimiche (e come queste non sono ancora conosciute in tutti i particolari). Assumono un maggior grado di complessità ed al tempo stesso un più profondo significato generale, perché le cellule che vi sono coinvolte sono solo una parte di un intero apparato immunitario, che comprende vere categorie di cellule ed interi organi. Questo apparato immunitario è distribuito, "contessuto", in tutto l'organismo dei vertebrati come il sistema circolatorio ed il sistema nervoso.

Di qui l'espressione di "sistema reticolo-endoteliale" (abbreviato in inglese in RES) che è stata adottata per questa formazione reticolata di tessuti interni. (Il parallelo con il reticolo endoplasmatico, ER, è pienamente giustificato — vedi a p. 149 — perché alla fin fine l'ER pure rappresenta un "reticolo interno", anche se situato all'interno di una singola cellula e non all'interno di un organismo pluricellulare.) Al RES appartengono (tra le altre cose):

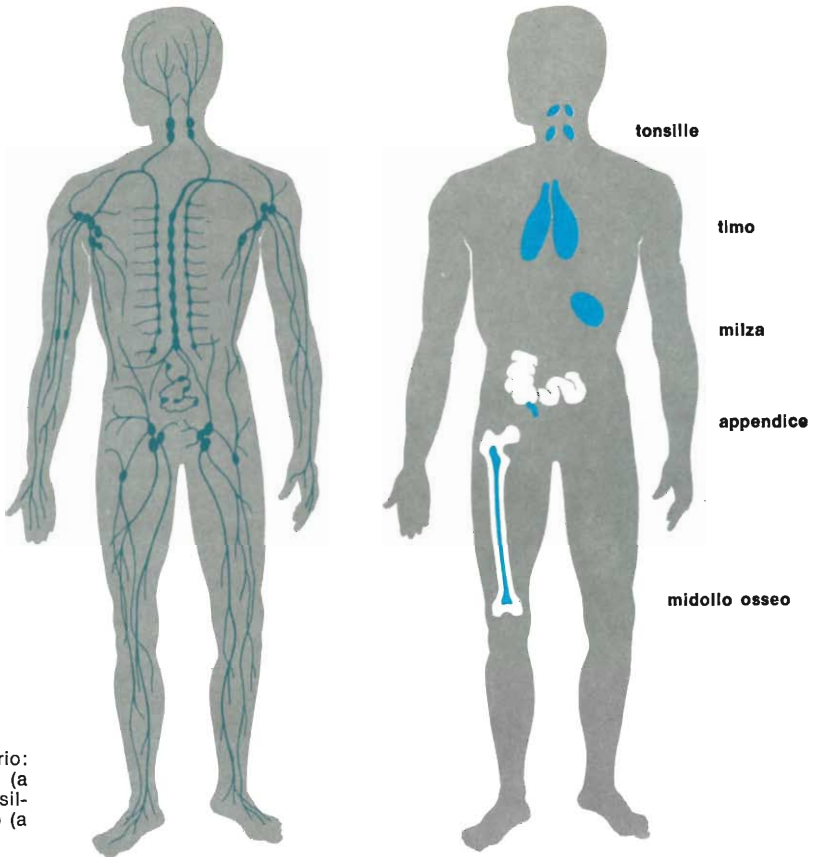
il timo, che si trova nella parte superiore del torace
la milza

il midollo osseo
le tonsille faringee e palatine
l'appendice dell'intestino cieco
i grandi linfonodi
i piccoli follicoli linfatici
i linfociti.

Senza dubbio abbiamo di fronte a noi la Scena seconda, davanti alla quale siamo già passati qualche volta senza soffermarci. Vediamo che cosa capita quando batteri pericolosi o le loro tossine penetrano nel sangue sotto forma di antigeni, attraverso una ferita, dopo aver superato le barriere non specifiche.

Frammisti ai globuli rossi che si trovano a milioni in ogni centimetro cubico, esistono sempre alcuni globuli bianchi = cellule della serie bianca = leucociti. Vi appartiene un gruppo che rappresenta una specie di corpo di polizia, in quanto attacca immediatamente gl'intrusi divorandoli, fagocitandoli, nel modo che conosciamo. Se gli antigeni sono pochi, gli scarsi leucociti presenti hanno la meglio senza tanti sforzi, e li digeriscono in virtù della loro abbondante dotazione di enzimi. Non ci sono turbamenti e non compare neppure un'inflammazione. Se però gli antigeni sono in maggioranza, i leucociti perdono il controllo della situazione. Fanno "indigestione", gonfiano enormemente, ma non riescono più a demolire gli antigeni, anzi ne diventano le vittime e finiscono con l'andare in frantumi (vedi figura a p. 254). Da questi frammenti per successiva decomposizione vengono liberate sostanze dannose che provocano un'inflammazione, tra cui l'istamina (parente prossima dell'aminoacido istidina), la quale — sia detto per inciso — compare anche nel raffreddore da fieno.

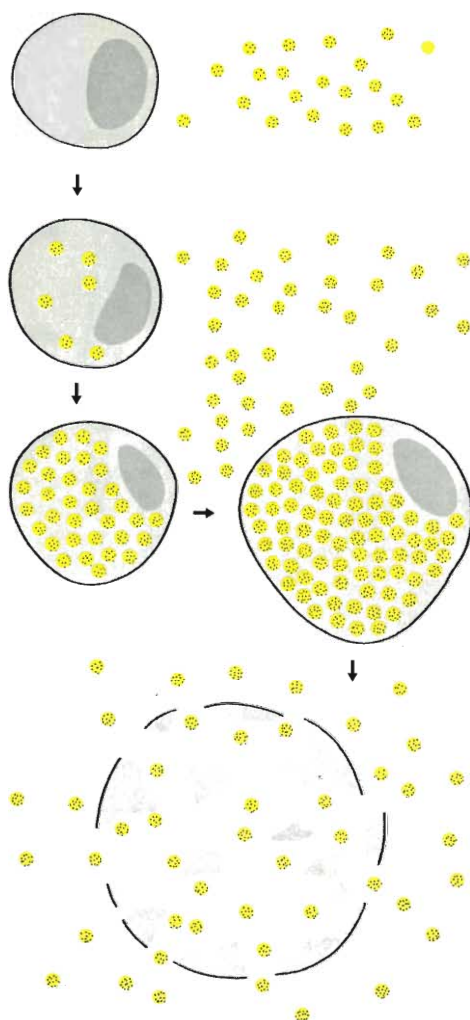
La comparsa di queste sostanze infiammatorie mobilita altri leucociti, questa volta dal midollo osseo, dalle linfoghiandole e soprattutto dal timo. Questi nuovi leucociti si abbattono come una seconda ondata su quanto trovano sul loro passaggio: avanzi delle



Apparato immunitario:
il sistema linfatico (a
sinistra); dalle tonsil-
le al midollo osseo (a
destra).

cellule distrutte, antigeni eventualmente ancora presenti, persino vecchi globuli bianchi. Sono vere cellule divoratrici, che possono sensibilmente aumentare di dimensioni, e sono dette per questo "macrofagi". Il loro intervento conclude generalmente il primo atto; se tutti gli antigeni sono stati fagocitati e digeriti, ogni pericolo è sventato. Con questo non si è però ancora raggiunta un'immunità attiva! Possiamo parlare d'immunità quando l'organismo, dopo aver vinto la prima battaglia, in seguito produce e tiene di riserva degli anticorpi. Nel caso di una seconda infezione della stessa natura,

esisterebbero allora pronti, fin dall'inizio, anticorpi in quantità sufficiente per rendere subito innocui, con precipitazione o agglutinazione, gli antigeni che sono nuovamente penetrati nell'organismo. Ma quali sono le cellule che producono gli anticorpi di riserva, e come riescono a fabbricarli? Di primo acchito viene da pensare che gli anticorpi debbano formarsi nei macrofagi stessi, i quali divorano gli antigeni cui devono essere "adattati" gli anticorpi. Ma non è vero. Al loro posto entra in azione un tipo di cellule completamente nuovo, le "plasmacellule".



Leucociti che stanno fagocitando antigeni. Se questi ultimi sono in soprannumero, i leucociti ne fanno "indigestione" e periscono.

6.07 Le plasmacellule sono la fabbrica degli anticorpi

Ma come riescono a forgiare anticorpi specifici?

L'origine di queste cellule è abbastanza chiara: derivano tutte da cellule mesenchi-

mali indifferenziate. Il mesenchima è un tessuto giovanile e molle dal quale tra le altre cose deriva, "si differenzia", anche il tessuto connettivo. Esse vengono "in qualche modo" stimolate a moltiplicarsi: dobbiamo per ora ammetterlo senza altre precisazioni. Le prime cellule figlie sono ancora poco specializzate ("differenziate"): sono chiamate "plasmablasti". Continuano a dividersi, circa una volta ogni 10 ore, in modo che alla fine, verso il quinto giorno, da un plasmablasto sono derivate circa 500 cellule. Contemporaneamente però avviene un "processo di maturazione" che trasforma giovani plasmablasti in plasmacellule funzionanti. Come indica la figura a p. 255, nel citoplasma compaiono ribosomi, che aumentano sempre più, e le prime cisterne del reticolo endoplasmatico, anch'esso in espansione. Nello stadio finale la cellula è tutta occupata da un reticolo endoplasmatico molto esteso, le cui membrane sono ricoperte di ribosomi. *A questo punto la cellula è pronta ad essere una fabbrica di anticorpi.* Essa può produrre anticorpi a sufficienza e riversarli ininterrottamente nel circolo sanguigno.

Era prevedibile che la plasmacellula fosse ricca di RNA e di ribosomi essendo produttrice di anticorpi, perciò di gamma-globuline di struttura particolare. A questo scopo alla cellula occorrono tutti gli strumenti necessari alla sintesi proteica, tra cui i ribosomi, facilmente dimostrabili con il microscopio elettronico.

Fu molto più stupefacente il risultato di un esperimento eseguito con tossina tetanica attenuata e marcata con tritio, lo stesso isotopo radioattivo dell'idrogeno di cui si è fatto uso negli esperimenti con il DNA e l'RNA di cui abbiamo già parlato. Si è notato che molto sovente i plasmablasti, ma più sovente ancora le plasmacellule produttrici di anticorpi, non contengono traccia di radioattività; tutt'al più contengono frammenti estremamente piccoli ed insignificanti di antigene. I macrofagi invece sono risultati fortemente radioattivi, e perciò carichi di antige-

ni. Si dovrebbe concludere che le plasmacellule non hanno un bisogno assoluto degli antigeni contro i quali devono produrre gli anticorpi adatti. D'altra parte "sanno" però esattamente come devono essere gli anticorpi, non sbagliano, e generalmente producono sempre la stessa ed unica specie di anticorpo. (Qualche eccezione è stata osservata: una plasmacellula può fabbricare fino a 4 differenti anticorpi contemporaneamente.) Ma da dove proviene questo "sapere", o, per essere più positivi, da dove proviene l'informazione per poter produrre anticorpi modellati e ripiegati in modo specifico, ed in quale forma?

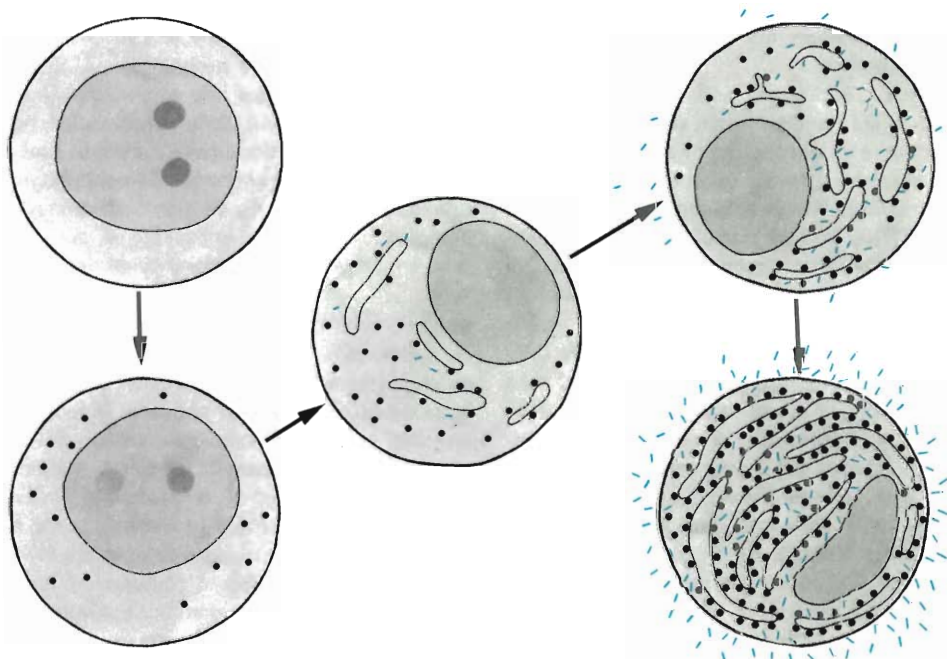
Anche questa domanda così importante non ha ancora una risposta sicura. Vi sono due ipotesi che tentano di fornire una spiegazione: quella istruttiva o delle matrici (in inglese *template theory*) e quella selettiva o

della scelta del clone (*clone selection theory*), entrambe animatamente discusse.

1ª teoria: l'antigene stampa l'impronta sull'anticorpo

L'ipotesi istruttiva o delle matrici parte dal principio che l'antigene stesso si mantenga come modello o matrice. Ogni gruppo determinante serve da conio, e il punto di attacco dell'anticorpo è "modellato" a sua perfetta immagine (complementare). Per essere precisi, devono essere modellati due punti di attacco identici, essendo l'anticorpo bivalente.

Questa ipotesi presenta però due difficoltà: a) Abbiamo appena detto che esistono plasmacellule produttrici di anticorpi nelle quali non si scorge nessun antigene. Come in-



Maturazione di giovani plasmablasti in plasmacellule. Reticolo endoplasmatico e ribosomi sono in continuo aumento finché la "fabbrica di anticorpi" è pronta.

interpretare questo fatto? Accanto a questo chiaro reperto ne esistono altri opposti, in cui la presenza di antigeni (anche se non sempre nelle plasmacellule) è stata dimostrata dopo mesi ed anni dalla prima infezione. Generalmente la loro concentrazione è molto bassa, tuttavia con 1.000 molecole di antigene per ogni cellula "immunologicamente competente" sarebbe sufficiente.

In altri casi, ed in particolare nei polisaccaridi delle capsule dei pneumococchi, la quantità di antigene non diminuisce praticamente per mesi e anni perché evidentemente mancano gli enzimi demolitori. Naturalmente questi antigeni non sono attivi, altrimenti ucciderebbero l'organismo. Sono invece in qualche modo bloccati; si pensa che siano combinati con molecole di RNA di macrofagi. Resi così inoffensivi, ma con le parti essenziali preposte alla funzione di matrice ancora ben conservate, essi possono in un certo senso essere tramandati, come informazione, attraverso numerose generazioni di cellule, fino ai plasmablasti ed alle plasmacellule.

Tuttavia, se davvero esiste anche un solo caso in cui l'antigene non compare all'interno della plasmacellula, sorge effettivamente un'obiezione grave, fuorché l'antigene abbia trasferito il suo contenuto di informazione all'RNA che si combina con l'antigene stesso. (Deve essere modellato un punto di attacco complementare al gruppo determinante!)

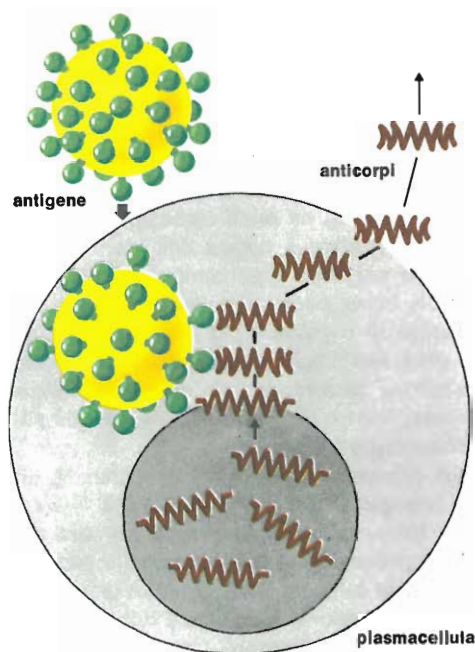
b) Questo ci introduce nella seconda difficoltà: ogni anticorpo è una globulina, cioè una proteina, quindi sottoposta alle leggi della sintesi proteica, di cui ci eravamo occupati a lungo nel primo capitolo. Le globuline degli anticorpi non si possono distinguere dalle altre globuline prive della funzione di anticorpo, né chimicamente né fisicamente. La via della sintesi proteica è fissata dall'informazione genetica (DNA) che passa dall'RNA e dai ribosomi, e la forma definitiva (ripiegamento) di una catena polipeptidica è stabilita unicamente dalla se-

quenza, diretta geneticamente, degli aminoacidi. Ma dove allora risiede, per l'antigene o per l'informazione da questo emanata, la possibilità d'intervenire? Non certo nella struttura primaria (sequenza degli aminoacidi) e neppure in quella secondaria (helix); forse nella struttura terziaria?

Prima di procedere bisogna pur dire a questo punto, almeno una volta, che molti studiosi di fama considerano un dogma l'idea che la struttura terziaria sia definita esclusivamente dalla struttura primaria (ne mancano però ancora le prove irrefutabili). Invece di polemizzare vediamo due esempi.

Ne dobbiamo uno al prof. Haurowitz, celebre chimico immunologo e delle proteine. Si è servito di azoproteine — proteine con proprietà di antigene dotate di un particolare gruppo determinante supplementare contenente azoto — iniettandole ad un pollo e ad un coniglio, perché entrambi producessero anticorpi contro il medesimo antigene. Questi due anticorpi sono sicuramente diversi chimicamente, poiché la loro composizione di aminoacidi, e probabilmente anche la sequenza di questi loro aminoacidi, non è la stessa. Tuttavia ambedue possiedono la stessa "complementarietà", cioè la stessa proprietà come anticorpi. Evidentemente una struttura terziaria (il punto di attacco complementare di un anticorpo) si può ottenere partendo da strutture primarie differenti.

Sempre sullo stesso tema, ma inversamente, è stato possibile mutare i ripiegamenti di comuni gamma-globuline di siero di coniglio trasformandole in anticorpi specifici: specifici contro siero-albumine umane cui fu aggiunta come "catena laterale" supplementare un residuo di dinitrofenile. Unico accorgimento è allentare provvisoriamente e disfare in parte (non completamente) i ripiegamenti della molecola di gamma-globulina. In seguito si provoca un ripristino di questi ripiegamenti in presenza di dinitrofenil-albumina. Evidentemente la maggior parte delle molecole riprenderà la forma ini-



Schema dell'ipotesi delle matrici: l'antigene penetra nella plasmacellula ed agisce da matrice per i nuovi anticorpi.

ziale, mentre uno 0,5% si sarà adattato in modo specifico alla dinitrofenil-albumina. Potrà sembrare poco, ma corrisponde all'aspettativa, perché non possono essere molte le molecole di antigene che incontrano le gamma-globuline, in parte spiegate, nel punto giusto ed al momento giusto.

Un intervento dell'antigene o dell'informazione antigenica nella produzione di strutture terziarie non può essere escluso, anche se non si sa come ciò possa accadere nei particolari. Nientemeno che il prof. Linus Pauling, detentore di due premi Nobel, ha proposto uno schema di come si potrebbe rappresentare nell'anticorpo il ripiegamento specifico dei siti di attacco all'antigene mentre questo è piazzato alla superficie del ribosoma (vedi figura a p. 258).

Le quattro catene polipeptidiche necessarie,

che stanno formandosi sul ribosoma, sono in un primo tempo distese, o tutt'al più assumono già la struttura ad helix (vedi figura 1 a p. 259). Le estremità libere delle catene si accostano ai gruppi determinanti dell'antigene e, ripiegandosi, assumono la forma complementare del punto d'attacco, mentre i tratti intermedi per ora rimangono distesi (2 e 3). Poi una dopo l'altra le estremità delle catene si staccano dall'antigene (4 e 5). (Questo distacco potrebbe sembrare a tutta prima non plausibile, perché i punti d'attacco degli anticorpi e dei gruppi determinanti dell'antigene sono proprio fatti in modo che si *colleghino* a vicenda per provocare la precipitazione. Ma infine anche il codone di m-RNA deve staccarsi dal codone del DNA col quale si combina perfettamente, quando la molecola di m-RNA deve migrare verso il ribosoma.)

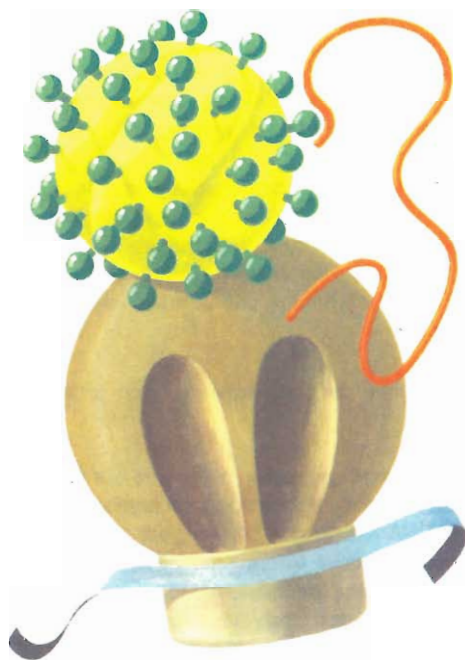
Alla fine si ripiegano anche i tratti intermedi della catena polipeptidica, ma questa volta secondo le direttive della loro struttura primaria (6). Così è stata completata la molecola bivalente e quadripartita dell'anticorpo.

L'ipotesi della modellazione (o delle matrici) non urta quindi contro difficoltà insormontabili, purché si accettino determinate premesse. Non è ancora dimostrata, come non lo è il dogma che sembra opporvisi.

2ª teoria: le plasmacellule sono chiarovegenti

Se la teoria istruttiva esige che sia negato il dogma dell'informazione esclusiva mediante il DNA — perché gli antigeni porterebbero con sé nuove informazioni per la forma dei ripiegamenti delle globuline — l'ipotesi della scelta del clone si basa proprio su un altro rigido dogma: che tutte le informazioni per tutti gli anticorpi contro tutti gli antigeni immaginabili siano presenti fin dall'inizio nell'organismo. Il sistema immunitario avrebbe a sua disposizione un grandis-

simo numero di cellule, ciascuna abilitata a produrre una certa specie di anticorpo. Ciascuna sarebbe efficiente "in potenza", ma inattiva prima dell'infezione. Gli anticorpi "ereditati" risiederebbero in superficie e non nell'interno della cellula. Quando un antigene penetra nel circolo sanguigno, basterebbe che fosse portato a contatto con queste strutture di superficie. Questo compito sarebbe assegnato ai macrofagi i quali, fagocitando l'antigene, scelgono la cellula giusta, cioè in possesso di un anticorpo di struttura *adatta* (ecco perché si parla di ipotesi della "scelta"). Col loro arrivo segnalano dapprima alla cellula immunologicamente competente che deve essere attuata una moltiplicazione cellulare. Così per mitosi si forma un "clone" (*vedi* a p. 78),



Schema del Pauling sulla formazione degli anticorpi. Sul ribosoma, con un m-RNA (blu) in funzione, sta sintetizzandosi una catena polipeptidica (bruna) che si piega per diventare anticorpo sui determinanti (verdi) dell'antigene (giallo).

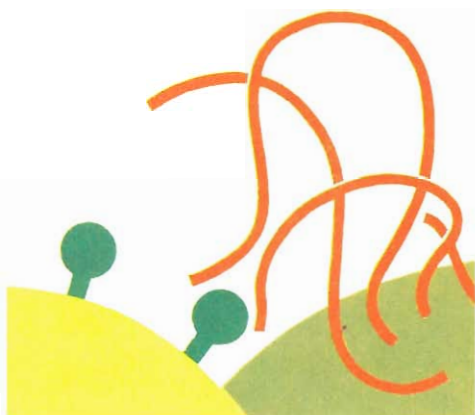
un ceppo unitario di cellule (di qui la denominazione più precisa di "ipotesi della scelta del clone"), che maturano successivamente in plasmacellule. Queste a loro volta fabbricano anticorpi che sono liberati nel siero, senza che l'antigene stesso abbia dovuto penetrare in una di queste cellule.

Questa ipotesi ha molti vantaggi. Ad esempio non intacca il dogma dell'informazione: tutta la sequenza degli aminoacidi dell'anticorpo, come pure i ripiegamenti terziari, e persino la riunione delle due catene corte e delle due lunghe in complessi da 160.000 (struttura quaternaria), è diretta geneticamente, mentre l'antigene agisce solo da stimolante (da innesco).

Con espressione più moderna potremmo dire (attingendo ai concetti ormai noti — *vedi* a p. 205 — sulla regolazione della sintesi degli enzimi-proteine) che prima dell'infezione, in tutte le cellule capaci di produrre anticorpi, l'informazione genetica è bloccata, repressa da un repressore. L'antigene eliminerebbe questa repressione (de-repressione) agendo da induttore della sintesi di anticorpi mediante inattivazione del repressore, esattamente come se si trattasse di una induzione di sintesi di enzimi.

Un secondo vantaggio di questa ipotesi è di spiegare in modo accettabile il motivo della forte moltiplicazione dei plasmablasti, alla quale sempre si assiste (formazione del clone). In tutto ciò rimane però ancora oscuro come l'antigene oppure il macrofago contenente l'antigene riescano a provocare la divisione di un plasmablasto.

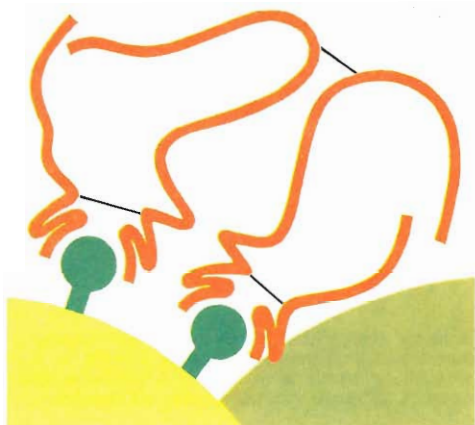
Ma altre cose ancora dovrebbero essere chiarite. Tutte le cellule di un organismo diploide, data la loro origine comune per mitosi, possiedono la stessa informazione genetica e non sono ancora in nessun modo "immunologicamente competenti". Da dove le innumerevoli cellule del mesenchima hanno ricavato le loro informazioni supplementari destinate ai diversi anticorpi? Si dovrebbe ammettere che ancora prima della nascita si formino per mutazione delle



1



2



3



4



5



6

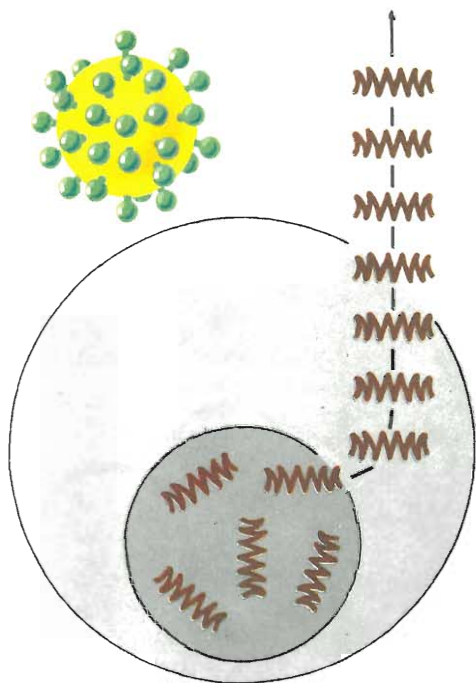
Schema ampliato del Pauling sulla formazione degli anticorpi alla superficie dei ribosomi (oliva) e degli antigeni (gialli) che tiene conto della composizione in quattro sotto-unità dell'anticorpo. Queste vengono ripiegate una dopo l'altra in modo specifico dall'intervento dei gruppi determinanti (verdi). La presenza di due gruppi determinanti uguali non è indispensabile.

cellule con nuove proprietà che vengono conservate; si costituirebbe così tutta una popolazione di cellule (competenti) con proprietà immunologiche in potenza, dalle quali poi l'antigene sceglierà l'unica adatta. Simile fatto non si può escludere a priori, però manca di qualsiasi prova.

Ma ora arriviamo alle effettive difficoltà, perché naturalmente ne esistono anche per la teoria della scelta del clone (selettiva). Una obiezione fu sollevata molto presto: pare molto improbabile che un organismo tenga pronte di riserva migliaia, centinaia di migliaia di cellule diverse, per fare fronte a tutti gl'immaginabili antigeni (e quasi ogni sostanza chimica può agire da antigene). Tutto diventa ancora più inverosimile, se consideriamo l'azione di antigeni tanto innaturali come le azoproteine. Questi composti azotati sono puramente sintetici, sono stati prodotti dal chimico. Lo stesso si può dire per i gruppi con dinitrofenile, con azofenilarsonato e con basi quaternarie ammoniacali, solo per citarne qualcuno che sia complicato nella struttura e nella denominazione. Tutti possono stimolare la formazione di anticorpi. Non è molto saggio credere che gli organismi abbiano potuto prevedere quali composti il chimico avrebbe loro un giorno offerto ed abbiano tenuto in riserva le anticellule corrispondenti (nate da mutazioni occasionali).

Se la seconda teoria fosse giusta, dovremmo sperare che la chiarezza delle plasmacellule si estenda anche a quelle sostanze estranee celesti che verranno portate a terra dai voli interplanetari, altrimenti andremmo senza alcuna risorsa incontro ad epidemie.

Un altro argomento contrario è fornito dai risultati di recenti ricerche. Se le cellule potenzialmente provviste di anticorpi sono sorte per mutazione, per ragioni di probabilità (vedi a p. 86) ci sarebbe da aspettarsi che una cellula riesca a mutare per la formazione di un unico anticorpo, e non di molti contemporaneamente. Perciò un clone di



Schema dell'ipotesi della scelta del clone. Il macrofago contenente l'antigene sceglie la plasmacellula adatta e la induce a produrre anticorpi. L'antigene (sopra) rimane all'esterno.

plasmacellule dovrebbe poter sintetizzare sempre soltanto una sola specie di anticorpo. Sono invece stati dimostrati casi in cui una sola cellula può formare due anticorpi diversi. Si è giunti a scoprire un clone che produce ben 4 anticorpi diversi! Questo naturalmente toglie molto valore alla teoria della scelta del clone, come ha persino riconosciuto il suo stesso ideatore.

Le due teorie sono completamente opposte e sembrano inconciliabili, infatti:

o tutta l'informazione per gli anticorpi è già presente prima dell'infezione, è sorta filogeneticamente e deve essere soltanto scelta (teoria selettiva, ipotesi della scelta), oppure tutta l'informazione deriva dallo stesso antigene, che istruisce le plasmacellule

su quanto devono eseguire (teoria istruttiva, ipotesi delle matrici).

In questa formulazione estrema le due teorie si escludono a vicenda, ma forse questo assolutismo non è giustificato.

Al convegno di chimica immunitaria della Gesellschaft für physiologische Chemie (Società di chimica fisiologica), il prof. Eigen ha espresso il dubbio che la distinzione tra selettivo ed istruttivo possa essere una questione del livello a cui si considera il fenomeno. A livello più basso, quello molecolare, esiste solo la selettività, cioè la scelta di quanto è a disposizione. Anche la formazione di una catena polipeptidica con aminoacidi attivati riposa, in ultima analisi, su un meccanismo di scelta, poiché vengono proprio scelte le molecole di t-RNA cariche dell'aminoacido giusto. D'altra parte invece il "montaggio" di determinate sequenze di aminoacidi, in precedenza codificate per ottenere unità superiori, potrebbe benissimo svolgersi secondo la teoria istruttiva, ossia secondo le istruzioni dell'antigene (relative forse alla riunione di catene leggere e pesanti nella formazione dell'anticorpo completo?). Se fosse così, ci troveremmo davanti ad una specie di meccanismo "semi-istruttivo".

Abbandoniamo la questione alle future ricerche, che non tarderanno a procurare risultati positivi. Anche se non abbiamo parteggiato per l'una o l'altra delle teorie — non avremmo potuto farlo legittimamente — abbiamo tuttavia completato le nostre conoscenze di biologia molecolare e fisiologia cellulare con nozioni sull'immunizzazione attiva (anche se non è stata ancora completamente spiegata). Si è visto che un'infezione debole (vaccinazione) stimola nell'organismo la produzione di ben determinati anticorpi. Questa produzione si arresta quando tutti gli antigeni sono stati imprigionati o eliminati, ma cellule immunologicamente competenti conservano la facoltà di produrre questi anticorpi. Al ripetersi dell'infezione esse "ricordano" e riattivano im-

mediatamente il processo. (Sono perciò anche chiamate "cellule della memoria", *memory cells*; attualmente si discute molto se siano in rapporto con le molecole della memoria descritte nel capitolo precedente.)

Eppure con la reazione antigene-anticorpo, che si svolge generalmente nel siero, abbiamo tutt'al più girato una pagina dell'immunologia biologica, che probabilmente non è neanche la più importante. Rendere inoffensive sostanze estranee è una funzione organica che agli occhi di molti scienziati appare un compito grossolano. Molto più importante e vasto sembra che sia il compito, sempre assegnato al sistema immunitario, di conservare l'individualità biologica. Che significato hanno queste parole?

6.08 Il "se stesso" o il "non se stesso"?

L'individualità biologica e le malattie da autoimmunizzazione

Affrontiamo il problema con una domanda su un argomento talmente ovvio da rischiare di passare inosservato: come può l'organismo che reagisce immunologicamente distinguere tra "estraneo" e "proprio", tra "se stesso" e ciò che "non è se stesso"?

Si sa da tempo che riesce a fare questa distinzione, che è indispensabile, perché, se praticamente ogni composto chimico può agire da antigene, o almeno da gruppo determinante, allora tutte le sostanze proprie all'organismo possono assumere quella parte. Se l'apparato immunitario non sapesse distinguere, potrebbe formare anticorpi contro se stesso, avvelenandosi.

Già in passato si è cercato di scoprire tali "auto-anticorpi" o di provocarne la formazione, ma senza successo. Paul Ehrlich, uno dei vecchi maestri della chimica immunologica, sperimentò con capre, immunizzandole contro i globuli rossi di altre capre. L'esperimento riuscì: si formarono anticorpi contro i globuli rossi, operanti da antigeni, uti-

lizzati per l'immunizzazione, ma questi anticorpi non reagivano mai con i propri globuli rossi. Quasi come risultato secondario, da questi esperimenti si scoprì che le capre, come anche l'uomo, si suddividono in diversi gruppi sanguigni, ormai bene identificati¹, ma non si rintracciarono auto-anticorpi. Ehrlich coniò l'espressione, usata sovente, dell'*horror autotoxicus*, della paura dell'autoavvelenamento. Ma questa è un'affermazione, non una spiegazione.

Ora sappiamo invece che esistono reazioni autoimmunologiche anche numerose, e che, come prevedibile, possono provocare "malattie da autoimmunizzazione". Però è certamente più giusto dire che esiste tutta una categoria di malattie che oggi sono attribuite a disfunzioni autoimmunitarie. Ne citiamo qualcuna:

la sclerosi multipla (o a placche), molto conosciuta e temibile, che si ritiene derivi da reazioni autoimmunitarie contro sostanze del sistema nervoso centrale (o che almeno vi sia una partecipazione di tali reazioni); diverse malattie cardiache, in cui si formano anticorpi contro cellule della propria muscolatura cardiaca;

la miasthenia gravis, con anticorpi che si rivolgono contro le proteine della muscolatura scheletrica;

l'oftalmia simpatica, sulla quale ci soffermeremo in modo particolare.

Esaminiamo gli ultimi due casi. Nella miasthenia gravis, che è un'atrofia particolarmente maligna dei muscoli, gli auto-anticorpi si possono rendere visibili. Si preleva da un ammalato del siero contenente di questi anticorpi, e lo si inietta in alcuni conigli. Come prevedibile, i conigli formano contro questi anticorpi — che ora nel coniglio si comportano come antigeni — degli anti-anticorpi, i quali a loro volta possono essere estratti dal siero dei conigli, purificati e "marcati". Questa marcatura non si effettua però con sostanze radioattive, ma con sostanze coloranti fluorescenti. (Le sostanze fluorescenti, quando sono irradiate con lu-

ce ultravioletta, invisibile all'occhio umano, emettono luce visibile e perciò brillano sul fondo scuro. L'arancio acridina di cui abbiamo trattato a p. 82 è ad esempio uno di questi coloranti fluorescenti.)

Si lascia agire l'anti-anticorpo fluorescente, così preparato, su un frammento di muscolo ammalato che contiene anticorpi legati ai suoi tessuti. Questi anti-anticorpi possono solo combinarsi con i loro anticorpi corrispondenti. Dopo aver eliminato con sciacquatura tutte le molecole di anti-anticorpo che non si sono combinate, si osserva che certe zone del muscolo diventano luminescenti, segno che in tali punti esistevano anticorpi, anzi auto-anticorpi.

Particolarmente tragico è il caso dell'oftalmia simpatica (nel significato etimologico di soffrire insieme). Quando una parte dell'occhio, il cristallino o l'iride, per esempio, è ferita o si ammala, proteine dell'occhio entrano nel circolo sanguigno. Qui non sono riconosciute come "proprie", l'apparato immunitario entra in azione e produce anticorpi; questi anticorpi però aggrediscono anche le parti sane corrispondenti dell'altro occhio, il cristallino o l'iride, distruggendole progressivamente.

In questo caso, come in quello delle altre malattie da autoimmunizzazione, non ha funzionato il potere di distinguere tra "se stesso" e "non se stesso": sostanze del proprio organismo sono state considerate e trattate come se fossero estranee. Perché?

Bisogna subito precisare che le sostanze proprie dell'organismo, per essere trattate come estranee, devono prima entrare nel circolo sanguigno; essendo dunque "nuove" per il sangue, ossia "estranee al circolo sanguigno", provocano di conseguenza una produzione di anticorpi.

Altri dati per chiarire il fenomeno si sono ottenuti con esperimenti sistematici eseguiti allo scopo di scoprire quali sostanze proprie all'organismo potessero esser causa della formazione di anticorpi (cioè provocare una "autosensibilizzazione"). Quanto

più una sostanza propria al corpo è localizzata lontano dall'apparato immunitario, tanto più intensamente può agire da antigene. Apparato immunitario non significa soltanto siero e circolo sanguigno; vi appartengono tutti gli organi ed i tessuti elencati a p. 252 dal timo ai leucociti. È questo l'apparato immunitario competente che decide sul "proprio" e il "non proprio".

Ora comprendiamo perché i tentativi di Ehrlich di scoprire auto-anticorpi diretti contro le cellule del loro stesso sangue siano rimasti vani: i globuli rossi del sangue si trovano già fin dall'inizio nel circolo sanguigno, non solo dal momento della nascita, ma da prima ancora, dal periodo di vita intrauterino. Vi si sono sempre trovati, e per questo non vengono considerati estranei.

Tutto ciò ha ricevuto conferma da esperienze d'altro genere. Se danneggiamo l'apparato immunitario (non il circolo sanguigno), asportando a esempio da conigli, al momento della nascita, il timo e l'appendice vermiforme, si producono sovente auto-anticorpi contro i loro propri globuli rossi, mentre in altri casi viene a cessare completamente la produzione di qualsiasi anticorpo. Nella myasthenia gravis, che si manifesta con la presenza di auto-anticorpi, troviamo sovente tumori al timo. Un'alterazione dell'apparato immunitario si ripercuote regolarmente sul "riconoscimento del se stesso" immunologico.

Tutto questo non ci spiega ancora come avvenga la distinzione tra "proprio" e "non proprio", ma ci permette di capire perché l'apparato immunitario talvolta sbaglia o sia costretto a sbagliare nelle sue decisioni. Altri casi ci permetteranno di completare il nostro giudizio. Prima però dobbiamo concludere sulle malattie da auto-immunizzazione. Con le nozioni oggi acquisite possiamo intravedere i primi mezzi di difesa contro queste malattie sovente pericolose, perché apparentemente "inafferrabili". O si cerca di rinormalizzare l'apparato immunitario, o si cerca di evitare che le sue decisioni,

errate ed ostinate, abbiano conseguenze, tentando di bloccare la produzione degli auto-anticorpi indesiderati. In questo campo il cortisone ha prestato servigi preziosi nonostante i molti preoccupanti effetti secondari.

6.09 "Se stesso" = "non se stesso"?

I neonati non conoscono alcun antigene

Abbiamo detto che l'organismo può trattare sostanze proprie come se fossero estranee e perciò combatterle immunologicamente con auto-anticorpi. Ora dobbiamo citare il fenomeno opposto, la "paralisi immunitaria", che compare quando, talvolta, forti quantità di un antigene impediscono la formazione dell'anticorpo destinato proprio contro quell'antigene. Che cosa succeda in questo caso non si sa affatto. Tuttavia, da un lato la paralisi immunitaria, dall'altro la formazione di auto-anticorpi dimostrano chiaramente che il limite tra il "se stesso" ed il "non se stesso" non può essere sempre nettamente tracciato. Circa dieci anni fa, con la scoperta della "tolleranza immunitaria", si riscontrò quanto fosse in realtà incerto questo limite. Infatti il potere di auto-riconoscimento non è innato, viene acquisito. Nel periodo che segue immediatamente la nascita, e naturalmente in quello che la precede, il giovane organismo non distingue ancora tra "proprio" e "non proprio", considera "proprio" tutto quanto trova nel suo circolo sanguigno. Tutte le sostanze ed i composti che in seguito, durante la vita, potranno agire da antigeni, sono ancora tollerati: sono quindi chiamati "tollerogeni".

Il feto che vive nel seno materno è immunologicamente tollerante. Se, in animali da esperimento, si iniettano al feto antigeni del tetano o proteine di coniglio, l'animale rimarrà per tutta la vita immunologicamente tollerante verso la tossina tetanica e le proteine di coniglio, successive infezioni delle quali "non verranno prese in considerazione".

Quello che a prima vista sembra una clamorosa infrazione al principio dell'immunità (che è il custode dell'individualità biologica) si rivela alla fine come un provvedimento molto saggio. Basta pensare che il feto nell'utero possiede un genoma materno ed un genoma paterno che lo dirigono, quindi anche proteine materne e paterne. Affinché lo scopo della sessualità, cioè la ricombinazione di sostrati ereditari, non sia impedito fin dal principio, occorre che gli apporti dei due genitori nell'embrione, per quanto differenti immunologicamente possano essere, si sopportino reciprocamente, si tollerino. Evidentemente nell'embrione i dispositivi per la produzione degli anticorpi sono completamente bloccati fin dall'inizio. (Siamo di fronte forse ad un fenomeno che assomiglia a quello della repressione totale dei geni preposti alla formazione degli anticorpi nelle plasmacellule, come ammette l'ipotesi della scelta del clone?)

Anzitutto, l'embrione all'interno dell'utero è collegato al circolo sanguigno della madre dal cordone ombelicale e dalla placenta. Mediante queste vie le proteine paterne dell'embrione, perfettamente tollerate dal feto, potrebbero penetrare nell'organismo adulto della madre, che non è affatto tollerante nei loro riguardi, e provocarvi la produzione di anticorpi. Questo però non accade, perché esiste una barriera che lascia passare sostanze nutritive e non anticorpi. (Ci sono tuttavia alcune eccezioni; il fattore Rhesus dei gruppi sanguigni, cioè il fattore Rh, può passare poco prima della nascita dal feto al circolo sanguigno della madre; in senso inverso, la barriera è permeabile per gli antigeni della sifilide.) Inoltre questa barriera non contiene alcuna cellula immunologicamente competente: può essere paragonata ad una "zona smilitarizzata" che impedisce (quasi) ogni scambio di antigeni, quindi ogni inutile produzione di anticorpi.

Il passaggio dalla fase di tolleranza immunitaria del feto alla reattività immunitaria completamente sviluppata del bambino non

si compie sicuramente di colpo, però sembra che press'a poco coincida col momento della nascita. Molti fatti sembrano confermare che questo cambiamento di condizioni nel feto abbia importanza nel provocare il parto. Appena nel feto incomincia a ridursi la tolleranza immunitaria, e ad allentarsi il bloccaggio della produzione di anticorpi, appena quindi il suo apparato immunitario entra in funzione e le prime tracce di anticorpi compaiono, l'organismo materno lo percepisce come corpo estraneo e lo espelle. (In aggiunta, anche la barriera immunitaria diventa naturalmente più permeabile, come si è visto nei riguardi del fattore Rh.) Dobbiamo tuttavia mettere una limitazione. Da quanto abbiamo detto, parrebbe che l'apparato immunitario sia costituito solo al momento della nascita o subito dopo. Non è vero. Anche la tolleranza immunitaria sembra sottostare al controllo del sistema linfatico. Certamente tutte le sostanze proprie all'organismo, considerate come "auto-antigeni", che siano venute a contatto sufficientemente presto con i tessuti immunologicamente competenti, sono riconosciute come proprie anche innanzi nella vita, quindi tollerate. Ma non tutte le sostanze estranee all'organismo che sono iniettate nel periodo intrauterino conducono ad una tolleranza immunitaria; anzi, il loro numero è ristrettissimo. Verosimilmente assai presto l'apparato immunitario stabilisce quali di queste sostanze saranno tollerate e quali non lo saranno.

Infine citiamo ancora un'altra particolarità dell'apparato immunitario, rintracciata in pesci tropicali. Il *Cynolebias adolfii* dell'America del Sud si adatta con facilità ad oscillazioni abbastanza ampie di temperatura dell'acqua: può vivere tanto a 30 °C quanto a 15 °C. A 30 °C ha reazioni immunitarie perfettamente normali, mentre, se è allevato a temperature inferiori, dimostra tolleranza immunitaria: il suo apparato immunitario è rimasto bloccato!

La scoperta della tolleranza immunitaria, di

apparenze così modeste in un primo tempo, ha ben presto avuto conseguenze strepitose nel settore prima molto problematico del *trapianto dei tessuti*.

6.10 Trapianto di tessuti e di organi

Come è possibile avviare a pericolose reazioni immunitarie

In uno dei tanti incidenti dei nostri giorni, capita sovente che tessuti ed organi siano profondamente danneggiati. Ampie superfici di pelle possono essere distrutte da bruciate, o reni schiacciati possono perdere le loro funzioni. Spesso sorge così la necessità di sostituire la pelle mancante o di trapiantare un nuovo rene. È noto da tempo che questa operazione riesce solo se l'organo trapiantato, l'innesto, proviene dal ferito stesso, cioè dal suo "sé immunologico". Tutt'al più può riuscire con gemelli uniovulari, perché hanno la stessa costituzione genetica, ma già tra fratelli l'esperimento di trapianto regolarmente fallisce. È vero che l'organo trapiantato attecchisce abbastanza facilmente, ma dopo qualche settimana — talvolta già dopo pochi giorni — è rigettato. Sostanze estranee, come le proteine, sono passate dal tessuto del donatore nel circolo sanguigno dell'organismo recettore che ha subito l'innesto, e vi sono trattate come antigeni; la reazione degli anticorpi si mette in moto, distruggendo non solo gli antigeni, ma progressivamente anche le cellule trapiantate che li hanno emessi. Tutto ciò non avviene se si riesce a sfruttare la tolleranza immunitaria. I pesci "fred-di" immunologicamente tolleranti permettono qualsiasi trapianto di tessuti provenienti da altri individui della medesima specie, e guariscono senza difficoltà, mentre quelli allevati al caldo rifiutano tutto quanto venga loro trapiantato.

Analogamente, ad esempio, frammenti di pelle di organismi adulti possono essere trapiantati in feti o neonati senza che insorga

no difficoltà; l'innesto si conserva per tutta la vita dell'ospite (del recettore), che tollera gli antigeni dei tessuti del donatore, li accetta come propri e quindi non produce anticorpi. Unico presupposto è che donatore e recettore non appartengano a gruppi zoologici troppo diversi.

L'esperimento si può condurre in maniera ancora più elegante. Se si inietta al feto un omogeneizzato di pelle dell'animale che si vuole usare come donatore, il trapianto del frammento di pelle potrà essere eseguito molto più tardi, quando l'ospite avrà già completamente sviluppato il proprio apparato immunitario. Gli antigeni del frammento di pelle intero, dal momento in cui è stata praticata l'iniezione, valgono come "tollerogeni", e quindi l'innesto attecchisce.

Anche gli uccelli si prestano a facili esperimenti. Si prendono uova di gallina, ad esempio di razza bianca, e, apertone il guscio in corrispondenza della camera d'aria, si esegue l'iniezione sotto la membrana sierosa. Se usiamo un omogeneizzato di razza nera, potremo poi trapiantare sul pulcino o sulla gallina adulta bianca un frammento di pelle "nera" (proveniente dallo stesso individuo donatore che ha fornito l'omogeneizzato); il frammento attecchisce, rimane nero e continua a produrre piume nere.

La tolleranza immunitaria così ottenuta non si limita ai tessuti cutanei. Se si usano omogeneizzati di rene o di fegato, invece che di pelle, l'innesto di pelle attecchisce ugualmente. Anche in questo caso le cellule iniettate nell'uovo devono appartenere allo stesso donatore del frammento di pelle. Naturalmente, si può al contrario rendere possibile un futuro trapianto di rene con un'iniezione di cellule cutanee.

A rigor di logica, si potrebbe perciò preparare un nascituro a qualsiasi trapianto di cui un giorno dovesse aver bisogno. I suoi genitori dovrebbero "soltanto" trovare un donatore, a) disposto a fornire in anticipo le cellule da iniettare e b) disposto a cedere in caso di necessità un organo qualsiasi.

Con pazienti adulti, che non sono stati resi tolleranti immunologicamente alla nascita, non sono possibili trapianti duraturi, a meno che, con abili interventi, si disinnesti l'apparato immunitario o almeno alcune sue parti. Questo è possibile usando raggi X, o, con le ossa, con il congelamento a bassissime temperature, che uccide le cellule immunologicamente competenti. Se successivamente si iniettano cellule del midollo osseo o della milza di individuo appartenente alla stessa specie, queste prendono il posto delle cellule uccise e le sostituiscono nelle loro funzioni. Beninteso, il presupposto fondamentale è che le cellule da iniettare provengano da un feto, perché sono le uniche immunologicamente tolleranti rispetto all'organismo ricettore. Con cellule immunologicamente competenti di donatori adulti i risultati diventano problematici. Se la parentela tra donatore e ricettore non è sufficientemente stretta, l'ospite ricettore reagisce ancora con difese immunitarie, talvolta solo dopo settimane o mesi. Insorgono numerosi sintomi patologici ("sindrome secondaria") ed il ricettore finisce col morire.

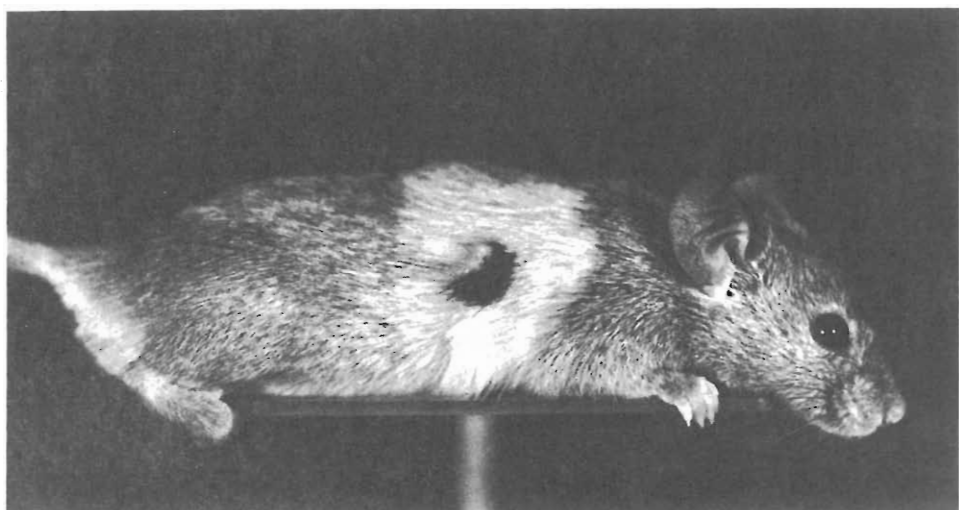
Questo trattamento per la protezione degli innesti è evidentemente troppo aleatorio per un impiego clinico; può tuttavia essere utile quando vi sia pericolo di morte per irradiazione con dosi eccessive di raggi X. Finché è distrutto il solo apparato immunitario, si può in certo modo sostituirlo con cellule immunitarie fetali.

Nonostante tutto, anche un trapianto ben preparato non sempre riesce. Specialmente quando il tessuto trapiantato contiene ancora cellule proprie immunologicamente competenti, succede che queste si ribellino contro l'organismo ospitante, producendo anticorpi contro i suoi antigeni. L'innesto prende così il sopravvento e produce quantitativi sempre maggiori di anticorpi diretti contro i tessuti dell'organismo ricettore. Arresto nella crescita, anemia, carenza di leucociti ed infine deperimento organico generale provocano la morte. Questa malat-

tia si chiama in inglese *runt disease*. Le conseguenze funeste si possono evitare solo se il tessuto dell'innesto è sicuramente privo di cellule immunologicamente competenti; per il momento si ottiene questa condizione solo in casi particolari. Ne citiamo uno che riguarda le ossa. Col congelamento a bassissime temperature di frammenti ossei, si uccidono praticamente tutte le loro cellule, di sicuro tutte quelle immunologicamente competenti. Rimane una armatura ossea "vuota". Questo frammento, trapiantato in un osso vivente, è accettato con docilità e subito popolato da cellule dell'organismo ospitante. Con queste premesse non si instaurano reazioni immunologiche; l'innesto in poco tempo guarisce. Attualmente molti ospedali traumatologici tengono pronte per ogni eventualità riserve surgelate di frammenti ossei delle più svariate forme e dimensioni (generalmente di pollo).

La tolleranza è infranta da farmaci?

Ha puramente interesse teorico, in un primo tempo, chiedersi se si possa annullare, rompere una tolleranza immunitaria ottenuta in precedenza sperimentalmente. Si può farlo. Basta agganciare al tollerogene (per esempio ad una comune proteina del siero) un nuovo gruppo determinante, esattamente come abbiamo visto a p. 247. In questa occasione è molto efficace l'aminoacido tirosina, che si può combinare, quale residuo tirosilico, col suo gruppo acido ad amino-gruppi liberi del tollerogene. La sieralbumina "tirosilizzata", detta anche "tollerogene coniugata", non è più un tollerogene, è diventato un antigene, contro il quale immediatamente sono mobilitati anticorpi. Dopo quanto abbiamo detto sui gruppi determinanti, era prevedibile. Sorprendente però è che si formino anticorpi non solo contro il tollerogene coniugato, ma anche contro il tollerogene stesso, in questo caso la sostanza di sostegno, la sieralbumina. Tutto questo può avere un'estrema impor-



Doppio trapianto: ad un topo grigio si sono trapiantati prima un frammento di pelle con peli bianchi, poi, su questo, un altro frammento con peli neri. Entrambi gli innesti hanno attecchito.

tanza clinica. Basta pensare agli innumerevoli farmaci che tanto sovente si introducono nel sangue. Che cosa succede se qualcuno di questi può accoppiarsi come catena laterale ai tollerogeni naturali? Per esempio, la sieralbumina propria dell'organismo considerato potrebbe passare da tollerogene ad antigene, contro il quale immediatamente si formerebbero anticorpi! In questo caso, dovremmo d'ora in poi esaminare tutti i farmaci, prima di autorizzarne l'uso, per sapere se riescano ad infrangere la tolleranza? Veramente questo inconveniente è stato osservato molto di rado, e per questa ragione: se si somministra la sostanza che può rompere la tolleranza insieme a sieralbumine umane, la tolleranza non è alterata. I tollerogeni in aggiunta formano una protezione efficace. (Come questo avvenga, non è ancora noto. Probabilmente la tolleranza è difesa da cellule immunologicamente competenti, e non dal sistema del siero responsabile dei "lavori grossi di pulizia".) Siccome in pratica nel sangue le sieralbumine sono sempre in forte eccedenza, il pericolo

della rottura della tolleranza è minimo. Tutto avrebbe un altro aspetto, evidentemente, se per una ragione qualsiasi si volesse di proposito ottenere una rottura della tolleranza.

6.11 Immunità nel periodo giovanile

Forniti di nuove nozioni torniamo ora al momento della nascita. Come abbiamo detto, il cambiamento dalla condizione di tolleranza immunitaria fetale a quella di attività immunitaria infantile o dell'adulto non avviene improvvisamente ma gradualmente. Se, per semplificare, consideriamo indice dell'attività immunitaria la quantità, o meglio la concentrazione, degli anticorpi nel sangue, osserviamo il seguente andamento negli anni: subito dopo la nascita gli anticorpi sono praticamente nulli; le reazioni di difesa incominciano — molto lentamente — con la seconda settimana; per un certo periodo la produzione di anticorpi continua ad essere scarsa; solo nel secondo anno di età ne esistono a disposizione quantità

sufficienti; l'attività più intensa prosegue fino al decimo anno (ed in questo periodo vengono generalmente superate le malattie infantili come morbillo, scarlattina, ecc.); tra i 10 ed i 20 anni l'intensità della difesa immunitaria diminuisce in genere leggermente, rimanendo poi costante fin verso i 40 circa; in seguito si riduce sempre più rapidamente con la vecchiaia.

L'andamento di questa curva segnala due particolari interessanti nel corso della vita: il lento avviarsi della produzione di anticorpi all'inizio, il declino dell'attività immunitaria nella vecchiaia. Cerchiamo di seguire questo sviluppo nel tempo, e consideriamo dapprima gli anticorpi che si formano in principio. Per molto tempo si è pensato che fossero ereditati. Ma non può essere vero, perché per definizione gli anticorpi si formano solo in presenza di qualcosa di estraneo, cioè degli antigeni.

*L'allevamento asettico degli animali
costa caro ma è necessario*

Desiderando controllare come stiano esattamente le cose, si è provato ad allevare animali in modo "asettico"; cioè senza antigeni. Ma è più presto detto che fatto. Nel seno materno il feto è certamente in condizione asettica, ma viene già durante il parto a contatto con le sostanze più disparate, appartenenti all'organismo della madre, o facenti parte dell'ambiente (e sappiamo che ogni sostanza chimica può agire da antigene). Si riesce anche a mantenere un parto perfettamente asettico — esistono al mondo alcuni impianti, rari e complessi, che lo permettono — ma nonostante ciò il problema non è ancora risolto poiché:

il neonato deve essere nutrito, e gli alimenti possono contenere antigeni; l'animale da esperimento è a contatto con i propri escrementi e quindi con gli antigeni più disparati;

in ogni recipiente usato per l'esperimento compaiono inevitabilmente particelle di pol-

vere contro le quali non servono i comuni metodi di sterilizzazione batteriologica;

l'animale ingoia talvolta frammenti di propri tessuti, peli ecc. assumendo così antigeni (reazione auto-immunitaria).

Da quanto precede si deve desumere che probabilmente animali in condizioni di asepsi assoluta non esistono. Possiamo essere soddisfatti, al giorno d'oggi, se un animale è privo di germi rintracciabili. Ma anche con questi soli oggetti di esperimento si è potuto dimostrare che i primi anticorpi, comparsi apparentemente in modo spontaneo, non sono ereditati, ma acquisiti precocemente con una reazione immunitaria sviluppata nel frattempo.

Questo risultato, che può apparire alquanto scarso in confronto all'attrezzatura complessa e costosa utilizzata, precede tutto uno svilupparsi di ricerche ancora agli inizi e prelude certo ad importanti scoperte. Desideriamo accennarvi brevemente citando due esperimenti eseguiti su cavia sterili.

Il *Vibrio cholerae*, agente patogeno del colera (vedi a p. 134), è pericoloso solo per l'uomo e non per gli animali. Però, se infettiamo cavia allevate asetticamente, queste si ammalano subito con tutti i sintomi del colera, e muoiono dopo 6-9 giorni. Lo stesso succede quando, insieme al *Vibrio cholerae*, si introduce un altro ceppo batterico. Invece le cavia normali possiedono una flora intestinale composta da numerose specie di batteri, contro la quale i bacilli del colera rimangono impotenti.

A questo esperimento se ne contrappone un altro. L'agente della dissenteria amebica, che si chiama *Entamoeba histolytica*, appartiene alle amebe, che non sono batteri, ma unicellulari senza parete rigida che cambiano sovente forma e si muovono con l'aiuto di prolungamenti plasmatici (detti pseudopodi). Attacca l'uomo, le scimmie, ed animali domestici come le cavia. Però, in animali asettici, l'*Entamoeba* è, da sé sola, assolutamente inoffensiva. L'animale si ammala, anche gravemente, soltanto quando

l'Entamoeba è introdotta insieme ad un batterio innocuo.

Si comprende ora l'importanza del metodo degli allevamenti asettici: è forse l'unico, oggi, che ci permetterà di chiarire i misteriosi rapporti tra i batteri "insediati", tollerati, e gli antigeni che vi si aggiungono. Forse riuscirà a spiegarci perché un antigene, che può colpire mortalmente una razza di animali, nel sangue di un'altra è tollerato o addirittura non agisce come veleno.

6.12 Immunità ed invecchiamento

Cellule che snaturano e parabiosi

Passiamo ora all'altra estremità della curva della vita, alla vecchiaia. Vecchiaia e morte, con il loro ineluttabile corso, hanno da sempre rappresentato un argomento scottante per l'uomo e, naturalmente, per lo scienziato¹. Un'ipotesi dopo l'altra è stata avanzata, rifiutata, perfezionata, generalizzata e poi di nuovo ristretta in ambito più modesto, eppure siamo ancora ben lontani dalla vera comprensione di questi fenomeni. Non sappiamo ancora se la vecchiaia sia una malattia, un processo di logoramento naturale o un progressivo estinguersi. Gli immunologi avrebbero certamente tradito la loro missione se non avessero tentato di portare il loro contributo allo studio del processo dell'invecchiamento.

Consideriamo la singola cellula. La durata

della sua vita nel corpo del vertebrato è relativamente breve, molto più breve in ogni modo di quella dell'organismo intero: talvolta vive solo qualche giorno. Siccome l'apparato immunitario ha il compito essenziale di conservare l'individualità dell'organismo nel suo complesso, e quindi di evitarne l'inquinamento da parte di cellule estranee, nulla vieta che sia anche adibito all'eliminazione delle proprie cellule invecchiate o danneggiate: è una funzione che può sorprendere, ma che non è affatto impossibile. Più volte abbiamo dovuto ammettere che i gruppi determinanti, che rendono riconoscibili le cellule antigene, sono disposti alla loro superficie. Ricordiamo solo i polisaccaridi dei pneumococchi e delle Salmonelle (vedi a p. 249), oltre alle strutture di superficie così importanti nella scelta dei plasmablasti adatti (ipotesi della scelta del clone, vedi a p. 258). Ora si sospetta che anche le cellule normali, invecchiando, perdano progressivamente le loro strutture superficiali. Si produrrebbero perciò delle zone "pelate", che mettono a nudo gli strati molecolari più profondi. Questi strati sono però nuovi, sono considerati estranei e quindi combattuti con anticorpi corrispondenti.

Per rendere non soltanto innocue, ma per dissolvere veramente queste cellule, gli anticorpi non bastano. Deve aggiungersi un fattore, il complemento. Possiamo così completare la tabella di p. 242 aumentandola di una riga:

Reazioni tra antigeni e anticorpi:

1. Antigene libero	+ anticorpo (antisiero)	→ precipitazione
2. Antigene unito alla cellula	+ anticorpo (antisiero)	→ agglutinazione
3. Antigene fissato ai globuli rossi	+ anticorpo (antisiero)	→ emo-agglutinazione
4. Antigene unito alla cellula	+ anticorpo	→ citolisi (= dissolvimento della cellula)
	+ complemento	

Il complemento è stato considerato a lungo una formazione molto dubbia; numerosi immunologi gli negavano ogni carattere di sostanza in sé, e riconoscevano tutt'al più che si trattasse di un particolare aspetto di sostanze interessate al processo. Solo da poco tempo si è avuta la conferma che il complemento esiste come sostanza, naturalmente in quantità piccolissime. Per questo rimase inafferrabile dai metodi d'indagine più antiquati. Attualmente si conoscono numerose frazioni di complementi, ed infine si è anche riusciti a vedere l'azione del complemento al microscopio elettronico. Dopo trattamento col complemento, nella parete dei globuli rossi diventano visibili piccoli fori, che si è quasi certi siano stati praticati dal complemento (in modo analogo a quello dei batteriofagi, quando iniettano il loro DNA nel corpo del batterio, vedi a p. 110). Attraverso queste aperture le cellule si svuotano gradatamente del loro contenuto e finiscono col dissolversi completamente.

Non si dubita più che all'eliminazione di cellule vecchie ed inutili partecipino intensamente i processi immunitari. Ma questo non ci spiega ancora nulla sulle cause dell'invecchiamento.

A questo proposito sono sorte negli ultimi tempi interpretazioni nuovissime ed audaci, che hanno come fondamento gli esperimenti di "parabiosi". Due animali, per esempio due cavia, vivono in parabiosi quando i loro apparati circolatori sono stati collegati insieme con intervento operatorio. Possiedono così il circolo sanguigno in comune. Se gli individui collegati non sono gemelli univulari, l'organismo parabiotico artificiale non sopravvive a lungo; ognuna delle due metà è formata da individui immunologicamente diversi che producono anticorpi l'uno contro l'altro. Il sistema parabiotico crolla; prima muore uno degli individui (il cui collega è stato più rapido nella produzione di anticorpi), poi muore anche l'altro. Lo svol-

gimento è quello del rigetto di un innesto da parte di un organismo ospitante non tollerante.

Se i due individui da collegare provengono da una riproduzione consanguinea durata 30 o 40 generazioni, e sono quindi diventati sempre più simili tra di loro anche dal lato immunologico, il sistema parabiotico sopravvive più a lungo e può quasi raggiungere la durata media della vita dei due animali presi isolatamente. Ma in questo caso pure, alla fine, il sistema non regge. Uno dopo l'altro i due individui collegati muoiono; e sempre per reazioni di difesa che non si possono impedire.

La teoria immunologica dell'invecchiamento dice che ogni organismo è un individuo che vive in parabiosi con se stesso. L'invecchiamento è inevitabile, perché il limite tra il "se stesso" ed il "non se stesso" diventa col passare del tempo sempre più vago; alla fine insorge sempre una produzione di anticorpi diretti contro le proprie strutture. Questa teoria ha ancora evidentemente bisogno di analisi e di verifiche, prima di poter essere accettata ed utilizzata terapeuticamente in "gerontologia".

6.13 L'immunità come destino

Uno degli aspetti giusti della teoria della parabiosi è certamente questo: la condizione immunologica in cui viene a trovarsi un uomo o un animale è "destino", cioè un "destino immunologico individuale". Quale dinamismo è insito nei processi (non nei concetti), che abbiamo scoperto, di reazione immunitaria nel siero e nelle cellule, di tolleranza parziale o totale, di rottura della tolleranza e di paralisi immunitaria! A questi svariati mutamenti è esposto ogni singolo individuo nel corso della sua vita, dallo sviluppo nell'utero materno alla vecchiaia! Anche volendo mantenere perfettamente identiche tutte le condizioni, probabilmente

non riusciremo mai a condizionare due individui immunologicamente identici.

Siamo nelle mani del destino, che è irrevocabile, anche se si tratta del destino immunologico. Quando ad un certo momento sono comparse nell'organismo cellule che producono anticorpi (*memory cells*), queste non scompaiono più. Potrebbero essere tutt'al più distrutte da un intenso irradiazione (vedi a p. 267), ma sarebbe un'impresa molto pericolosa.

Il destino individuale immunologico ci spiega anche perché le reazioni immunitarie siano sovente così lunatiche, imprevedibili. Nessun uomo reagisce immunologicamente nello stesso modo, anche se le condizioni dell'esperimento sono identiche e mantenute perfettamente costanti. Questo fatto può anche manifestarsi in maniera clamorosa.

Qualcuno ricorda ancora la catastrofe della vaccinazione di Lubecca del lontano 1930. Nel celebre Istituto Pasteur di Parigi i dottori Calmette e Guérin erano riusciti ad allevare un bacillo della tubercolosi tanto indebolito da permettere di vaccinare i lattanti contro la tubercolosi. Persino l'enorme quantità di un grammo di questi bacilli attenuati non uccideva una cavia. A Lubecca il vaccino BCG (bacillo Calmette-Guérin) fu tragicamente scambiato con un ceppo virulento di veri bacilli della tubercolosi. Le conseguenze furono disastrose: il 27 % dei lattanti morì, il 56 % si ammalò ma guarì, il 17 % reagì senza che comparissero manifestazioni sintomatiche della malattia. Queste percentuali possono darci un'idea di quanto la "determinazione immunologica" sia già nei lattanti diversa.

Se in questo caso un errore ha provocato una catastrofe, i progressi dell'immunologia non vengono sminuiti. (Il vaccino BCG è oggi usato su larga scala e con sempre migliori risultati.) Rimane tuttavia accertato che l'uso di metodi chimico-immunologici non può mai garantire il successo se non si considera la capacità reattiva biologica di ciascun individuo.

6.14 Il cancro: problema di biologia immunologica?

Avremmo potuto concludere il capitolo sulla biologia immunologica con le osservazioni sulla vecchiaia e la morte, ma considerando i tentativi effettuati in questi ultimi tempi di curare il cancro col trapianto di tessuti immunologicamente competenti, dobbiamo ancora chiederci se il cancro possa essere interpretato e curato sotto l'aspetto e con i mezzi immunologici. È una domanda giustificata ma difficile, non tanto per mancanza di dati positivi, quanto perché, nel migliore dei casi, la risposta può essere solo parziale. Il problema del cancro ha molti lati. Sappiamo che è affrontato con una spesa annua di centinaia di miliardi in migliaia di laboratori e di cliniche, che molte vie sono battute, e tante altre sempre e continuamente cercate, e che una massa incalcolabile di osservazioni si è accumulata. Neppure un forte gruppo di ricercatori potrebbe avere una conoscenza completa di tutti gli aspetti del problema, per non parlare dell'estesissima letteratura specializzata.

Il fatto spaventoso ed ancora sempre incomprendibile nel cancro è (tra le altre cose) che cellule normali — per effetto di innumerevoli tipi differenti di stimoli, tanto chimici quanto fisici o fisiologici, e talvolta anche senza una causa apparente — si trasformino sempre nello stesso modo, cioè degenerino in cellule cancerogene; il loro ricambio, la loro crescita, la loro moltiplicazione rimangono senza inibizioni e sottratte ad ogni controllo. Finiscono col sopraffare le cellule normali e col causare la morte dell'individuo. Non sappiamo esattamente in che cosa consista questa mancanza di inibizione. Sembra certo che venga suscitata, anche se la sua natura può apparire, o realmente essere, unitaria, da fattori diversi nella cellula: da cambiamenti nell'informazione genetica, cioè mediante mutazioni (per esempio in seguito agli ef-

fetti della radioattività), ma anche da alterazioni nella regolazione del ricambio normale, al di fuori del nucleo, nel citoplasma, e da tante altre cause ancora. Ma noi non possiamo discutere tutti questi argomenti. Sotto l'aspetto della biologia immunologica possiamo semplificare la questione, tenendo solo presente che si tratta di una semplificazione rigorosa, di cui però non si può ancora assumere la responsabilità. Lasciamo da parte per ora la formazione delle cellule snaturate del cancro, ed invece chiediamoci: come reagisce l'organismo, e specialmente il suo apparato immunitario, nei confronti delle cellule cancerose presenti? Fanno parte del "se stesso" o del "non se stesso"? Sono riconosciute come elementi pericolosi?

Quando il medico diagnostica un'affezione tumorale, il paziente è generalmente già invaso da milioni di cellule cancerose. Questo fa pensare che l'organismo sia immunologicamente tollerante nei confronti di queste cellule (di tutte o solo di una parte?), a quanto pare non riconoscendole come estranee. La terapia adatta — proposta da alcuni studiosi russi — consisterebbe nell'infrangere la tolleranza immunitaria, per esempio con un apporto di cellule competenti provenienti da un organismo immune.

Il problema può però essere considerato anche sotto un altro aspetto. In caso di avvelenamento del sangue, sono presenti nel sangue stesso milioni di batteri e perciò di antigeni, eppure non esistono dubbi che l'apparato immunitario continui a funzionare: è stato semplicemente sopraffatto. Non si potrebbe trattare, anche nei tumori, di un processo simile, in cui compaiono

come patologici solo i casi nei quali all'apparato immunitario, che pure funziona, sia stato chiesto uno sforzo eccessivo?

Probabilmente nell'organismo, mediante mutazioni, alterazioni del ricambio, o in qualche altro modo, si formano in continuazione cellule "snaturate", cancerose, tumorali. Sappiamo che sovente le loro strutture di superficie differiscono da quelle delle cellule normali. Perciò, normalmente, nello stesso momento della loro comparsa sono subito giudicate non proprie dall'apparato immunitario e quindi eliminate. Solo quando troppe cellule cancerose compaiono, o troppi tipi differenti di queste cellule, le barriere immunitarie sono infrante, l'organismo è invaso (paralisi immunitaria?). Potrebbe anche darsi che non *tutte* le cellule degenerare abbiano strutture di superficie alterate (antigene, gruppo determinante). In ogni caso, nel prossimo futuro, assisteremo a notevoli sforzi di analizzare nel modo più preciso le strutture di superficie delle cellule cancerose, di rintracciare i gruppi determinanti ed i sierotipi, di capire la loro variabilità, condizionata o non condizionata geneticamente, di scoprire il loro grado di influenzabilità, e tutto quanto concerne l'immunologia biologica delle cellule tumorali. Per quanto sia poco ciò che si sa della cellula cancerosa, e per quanto sia vaga la risposta al quesito postoci, si vede chiaramente che anche l'immunologia biologica è chiamata a dare il suo contributo, che può essere positivo, alla lotta contro i tumori maligni. Sarà soltanto un contributo fra molti, che presto però si dimostrerà importante e prezioso.

¹ L'identificazione dei gruppi sanguigni è stata grandemente utile all'umanità poiché ha reso possibile la pratica delle trasfusioni sanguigne, ha consentito di salvare la vita dei neonati affetti da eritroblastosi e ha anche reso notevoli servizi alla medicina legale, da un lato, rendendo possibile l'identificazione di macchie di sangue, dall'altro, fornendo un meto-

do per l'esclusione della paternità (i gruppi sanguigni vengono infatti trasmessi dai genitori alla prole secondo meccanismi genetici semplici). Vediamo quindi cosa sono i gruppi sanguigni. I gruppi sanguigni sono sistemi che riuniscono un dato numero di antigeni presenti nei globuli rossi umani e animali, che vengono agglutinati, in vivo e in vitro, da

corrispondenti agglutinine presenti nel plasma sanguigno di altri individui. Il primo sistema di gruppi sanguigni fu scoperto all'inizio di questo secolo da Landsteiner che rinvenne nel sangue umano la presenza di antigeni (indicati con A e B) e di agglutinine (indicate con α e β) capaci di distruggere gli eritrociti portatori dei corrispondenti antigeni. Quindi, essendo la presenza degli antigeni e delle agglutinine variamente ripartita nel sangue umano, egli distinse vari gruppi: A, in cui è compreso il sangue di individui portatori di antigeni A e di agglutinine β (anti-B); B, con antigeni B e agglutinine α (anti-A); AB, con antigeni A e B e nessuna agglutina; O, senza antigeni e con entrambe le agglutinine. Da ciò deriva che il sangue del gruppo A distrugge i globuli rossi di quello del gruppo B e del gruppo AB, quello del gruppo B distrugge le emazie degli appartenenti al gruppo A e al gruppo O, quello del gruppo AB non agglutina nessun sangue, quello del gruppo O li agglutina tutti. Pertanto gli individui del gruppo AB possono dare il loro sangue a individui appartenenti a qualsiasi altro gruppo (sono infatti detti donatori *universali*), quelli del gruppo O invece possono ricevere il sangue di qualsiasi altro gruppo (recettori *universali*), quelli dei gruppi A e AB possono ricevere il sangue di individui appartenenti al loro stesso gruppo e al gruppo AB.

Successivamente vennero identificati altri gruppi tra cui particolarmente importante è l'Rh responsabile dell'emolisi fetale cui si è accennato sopra. Questo fattore, messo in evidenza nel 1941 da Landsteiner e Wiener dapprima nelle emazie di una scimmia *Macacus rhesus*, poi in quelle umane, consiste in realtà di 3 frazioni proteiche distinte (Rh₁, Rh₂, Rh₃) presenti nelle emazie. Gli individui che ne sono privi vengono indicati come Rh-negativi (o Rh-), gli altri Rh-positivi (o Rh+). La malattia emolitica del neonato si manifesta, dalla seconda gravidanza in poi, in donne Rh-negative portatrici di un feto Rh-positivo. Questo provoca nel sangue materno la comparsa di anticorpi capaci di agglutinare le emazie Rh+, ossia di causare la morte del bambino alla nascita, oppure di distruggerne poco dopo i globuli rossi il che si traduce in un ittero spiccatissimo. La malattia viene attualmente combattuta sostituendo tempestivamente il sangue del neonato i cui eritrociti, rivestiti da uno strato di globuline anticorpali filtrate attraverso la placenta, sono destinati alla lisi.

I gruppi sanguigni infine sono anche oggetto di studi da parte dell'antropologia sierologica. Si ritiene che il gruppo O sia, da un punto di vista filogenetico, il più antico, da cui si sono differenziati per mutazioni il gruppo A (in Europa) e il gruppo B (in India e in Asia centrale) quindi, per incroci successivi, il gruppo AB. Il gruppo O è infatti ampiamente rappresentato ovunque con incidenze variabili tra il 30 e il 90% ed è particolarmente diffuso nelle popolazioni indigene americane e di alcune zone africane, dell'Asia minore e dell'Oceania; il gruppo A predomina nell'Europa sud-occidentale, il gruppo B predomina nell'India e nell'Asia centrale mentre l'AB, complessivamente meno diffuso avendo un'incidenza del 5-10%, si trova con una certa frequenza nei popoli di origine molto antica come i Pigmei, gli Egiziani, gli Arabi, i Tartari, gli Indiani e i Giapponesi.

Per quanto riguarda l'Rh, la maggior parte degli esseri umani è Rh-positiva, riscontrandosi la presenza (peraltro non superiore al 15%) di soggetti Rh-negativi solo tra le popolazioni europee. [N.d.R.]

² La disciplina che si interessa alla vecchiaia, la gerontologia, era praticamente inesistente all'indomani della seconda guerra mondiale, ma in quest'ultimo venticinquennio il progressivo miglioramento del tenore di vita di molte popolazioni e il conseguente aumento della durata della vita media, ne hanno determinato la nascita e lo sviluppo. Attualmente la gerontologia si articola in tre grandi capitoli, la *gerontologia sociale* che si interessa al destino sociale della popolazione anziana, la *gerontologia clinica o geriatria* che tratta le malattie dell'età senile e la *gerontologia sperimentale* che studia i problemi dell'invecchiamento dal punto di vista fisiologico e biochimico.

Quest'ultima, pur essendo la branca più recente della gerontologia, ha assunto rapidamente una posizione di rilievo in quanto è apparso chiaramente, dopo anni di ricerche, che la comprensione dei fenomeni d'invecchiamento, nonché delle cause che li determinano scaturisce solo dalla conoscenza approfondita delle strutture isto-cito-molecolari che sono sede dei cambiamenti morfologici e funzionali responsabili della vecchiaia. Tuttavia, data la vastità dei problemi da studiare, la gerontologia sperimentale non è ancora indirizzata in un senso determinato, ma segue numerose vie e sta tuttora tentando di mettere a punto una teoria dell'invecchiamento. A questo proposito sono state proposte varie interpretazioni del fenomeno: distruzione di interi genomi nel cromosoma; sorgere di mutazioni che provocano la sintesi di proteine e di enzimi sbagliati; "disarmonia" tra i vari organi derivata da eccessiva differenziazione e causante una diminuzione della funzionalità; presenza di sostanze inibenti i processi cellulari.

Sul piano pratico le ricerche partono dallo studio della durata della vita ossia tendono in primo luogo a stabilire se questa sia limitata e da cosa, dato che all'inizio di questo secolo A. Carrel e A. H. Ebeling avevano teorizzato l'immortalità delle cellule in vitro, sostenendo che l'invecchiamento era legato alla presenza di sostanze estranee alla cellula. Questa tesi, oggetto di studi per circa mezzo secolo, ha trovato una convalida, almeno parziale, nella dimostrazione sperimentale degli effetti dannosi esercitati dalla superalimentazione nei confronti della durata della vita e ha determinato una serie di ricerche sull'alimentazione e, di conseguenza, sul metabolismo. Si è potuto così appurare che se il fabbisogno alimentare è correlato più al tipo di attività che all'età, il consumo di ossigeno e quindi l'attività metabolica, sono nettamente inferiori nei vecchi. Infatti nei tessuti che invecchiano è reperibile un pigmento bruno (lipofusina) del cui accumulo viene ritenuta responsabile l'insufficiente metabolismo cellulare, inoltre questi tessuti abbondano di enzimi demolitori, come ad esempio l'elastasi la cui attivazione nell'età senile sarebbe alla base delle alterazioni vasali arteriosclerotiche, tipiche della vecchiaia.

Altre caratteristiche alterazioni senili sono quelle a carico del collagene, componente tipico del tessuto

connettivo (parecchie malattie geriatriche come l'arteriosclerosi, il reumatismo senile, l'artrite, l'elastosi cutanea, ecc. sono infatti riunite nel gruppo delle collagenosi, o malattie del collagene). Il collagene, una volta formatosi, dura per tutta la vita dell'animale e quando la molecola è vecchia si forma un reticolo intramolecolare di filtranti chimicamente spiegabili con la formazione di legami trasversali, che ne irrigidiscono la struttura determinando un irrigidimento del tessuto connettivo. Non è ancora chiarito quale sia il destino metabolico dell'elastina, il secondo elemento strutturale del tessuto connettivo, né da cosa sia determinata la

formazione dei reticoli intramolecolari ma è prevista la possibilità di poterne bloccare la formazione arrestando la denaturazione del collagene. Il processo di invecchiamento del collagene, insieme a rilievi fisiologici sul sistema nervoso centrale, è alla base di una delle più accreditate ipotesi relative all'invecchiamento cellulare, secondo cui l'invecchiamento inizia nei sistemi senza *turnover* (che non si rinnovano) ed è condizionato dal grado di attività svolto dal tessuto in questione. Infatti è stato dimostrato nel tessuto muscolare che l'attività promuove la formazione di metaboliti i quali, tramite il DNA, stimolano la sintesi proteica. [N.d.R.]

7. Il limo primordiale e l'uomo dell'avvenire

L'origine della vita ed il suo sviluppo

E Dio fece gli animali sulla terra, ciascuno secondo la propria natura e il bestiame secondo la propria natura e ogni specie di vermi sulla terra secondo la loro natura...
(1. Mosè 1, 25)

Per la prima ed unica volta in capo ad un capitolo di questo libro c'è una citazione, le venerande parole di un credente, che doveva anche essere un poeta ed un veggente. Il titolo del capitolo ha invece un significato scientifico, "materialistico", in ogni caso razionale e positivo.

Quale ne è lo scopo? Le parole della Bibbia devono essere esposte al dileggio degli studiosi di scienze naturali? Nulla è più lontano da noi di una simile intenzione. Non vogliamo affatto contrapporre il racconto della creazione alla scienza, alla biologia molecolare (o viceversa), ma vogliamo porre l'una cosa accanto all'altra. In tal modo vogliamo semplicemente indicare il divario tra il contributo della mente umana e quello della fede per penetrare il più profondo di tutti i misteri: l'origine degli esseri viventi. Da una parte l'atto, unico ed irripetibile, della creazione dal nulla, che ha prodotto tutti gli esseri viventi "secondo la loro natura", dall'altra il mare primevo, nel quale le molecole, in parte casualmente, in parte in modo "automatico", si sono unite per formare le prime, primitive cellule, quelle cellule dalle quali si sono sviluppati a poco a poco gli esseri viventi superiori: un'inquadratura di sufficiente ampiezza per lo sforzo umano rivolto alla comprensione, e degna della profondità del problema.

Non vi è dubbio che le scienze naturali e la biologia siano più vicine al pensiero mec-

canicistico che alla fede ed alla poesia; non a caso nei precedenti capitoli ci siamo sempre imbattuti in "modelli" e in "meccanismi". Ma non vi è pure dubbio che tale constatazione è sovente fraintesa. Non spetta in alcun modo alla scienza della natura dimostrare che in ogni oggetto e in ogni svolgimento che studia non ci sia inganno, che cioè il mondo e quindi anche la vita debbano essere ricondotti esclusivamente a leggi fisiche e chimiche (questo è piuttosto un presupposto da parte di parecchi scienziati). Il compito della scienza consiste nell'indagare in quale misura in tutti i processi ed in tutte le cose concorrano le leggi fisiche e chimiche, nel controllare se tali cose e processi possano essere spiegati integralmente mediante tali leggi, nell'accertare se le leggi stabilite finora debbano essere ampliate o modificate, il tutto secondo la parola d'ordine "relazione causale": causa → effetto.

Con ciò non si esclude che vi siano altri modi di conoscenza. Il credente, il poeta, il veggente possono ammettere, al loro modo, altre relazioni reciproche sottratte alla causalità. Noi dobbiamo rispettarle. Queste non possono certamente formare oggetto della ricerca scientifica, e non vi possono essere applicati i metodi scientifici. D'altra parte si deve rispettare ciò che la scienza ha svelato circa i rapporti di causalità, poiché è riuscita a spiegare fenomeni che in precedenza non potevano esserlo. È però inevitabile che la visione armonica del credente, come spesso si lamenta, si dissolva in tal modo sempre di più. E non è neanche colpa sua se non è possibile porre qualcosa di equivalente in luogo dell'antica armonia...

7.01 Generatio spontanea...

I vermi nascono dalla carne putrida, i topi dalla terra umida

Torniamo ancora all' "alternativa": gli esseri viventi furono creati dal nulla mediante un unico atto creativo divino, oppure ebbero origine, casualmente o necessariamente, dalla materia inerte, inorganica, cioè "si svilupparono"? Questa è propriamente un'alternativa molto moderna. Nei tempi passati, fino alla fine del Medioevo, anzi fino all'età moderna avanzata, non era conosciuta. L'evidenza che si presentava alla vista insegnava quotidianamente che nella carne putrescente si generavano i vermi, altri ne nascevano dalla paglia e dalla spazzatura insieme a pulci e scarafaggi, dal fieno ammucchiato e dall'acqua avevano origine infusori e larve di zanzara. L'esperienza (attraverso l'osservazione) dimostrava che, oltre alla primitiva creazione degli esseri viventi per atto divino, aveva il suo corso una costante "generazione spontanea" dalla materia inerte, e che la vita poteva sorgere continuamente, come fatto nuovo, "per virtù propria" ¹. Aristotele (389-322 a. C.), filosofo e studioso della natura nello stesso tempo, supponeva che le piante sorgessero ogni volta dalla terra; credeva anche di aver osservato la generazione spontanea di molti animali. I vermi, le larve delle api e delle vespe, gli acari, le lucciole ed altri insetti dovevano essere generati dalla rugiada, dal letame putrefatto e dal fango, dal legno secco, dal sudore e dalla carne. Tutte le specie possibili di vermi intestinali nascono da parti del corpo putrefatte e da escrementi. Le zanzare, le mosche, le tarme, le farfalle diurne, gli scarabei stercorari, le pulci, le cimici ed i pidocchi nascono, secondo Aristotele, dal fango dei pozzi, dei fiumi e dei laghi, dall'humus dei campi, dalle muffe e dallo sterco, dal legno e dalla frutta putrefatti, dalle deiezioni degli animali e dalle immondizie di ogni genere, dai fondi del-

l'aceto e dalla lana vecchia. Non soltanto insetti e vermi, ma anche esseri viventi di organizzazione più complessa possono, secondo l'opinione di Aristotele, avere origine per generazione spontanea, ad esempio gamberi e vari molluschi dalla terra umida e dal fango putrido, le anguille e molti pesci dal fango marino, dalla sabbia e dalle alghe in putrefazione. Persino le rane e, in certe condizioni, le salamandre, possono formarsi nel fango in lento movimento. E i topi, sempre secondo tale opinione, avrebbero origine dalla terra bagnata (citazione tratta da Oparin: *L'origine della vita sulla terra*).

Ciò che si fondava sulla quotidiana osservazione e sull'autorità degli eruditi greci non aveva bisogno né di prove né di critica. Lo stesso avveniva per quanto riguarda l'esperienza secondo cui il Sole gira intorno alla Terra! Soltanto con il Rinascimento gli uomini divennero scettici nei riguardi della testimonianza dei sensi, e furono disposti ad accogliere i risultati della prova, dell'esperimento che si ripete ogni volta con lo stesso risultato.

Le dimostrazioni offerte da Galilei, Copernico e Keplero furono accettate presto, e in base ad esse ci si convinse che in realtà la Terra e gli altri pianeti ruotano intorno al Sole. Invece, intere generazioni di studiosi di medicina e di biologia lottarono invano contro la credenza nella generazione spontanea. Soltanto Luigi Pasteur (1822-1895) riuscì ad imporsi con i suoi irrefutabili esperimenti: ciò avvenne però molto lentamente. Il lettore si chiede meravigliato perché noi non tralasciamo, come abbiamo fatto finora, di ricordare gli errori del passato. Soltanto la confutazione della generazione spontanea mediante l'esperimento ha condotto alla moderna concezione secondo cui la vita ha avuto origine in un dato momento. Questa origine da allora non si è più ripetuta, ed attualmente gli esseri viventi derivano sempre soltanto da altri esseri viventi. La domanda oggi si formula nel seguente modo: la vita è sorta mediante un atto creativo

dal nulla, oppure è sorta necessariamente ("meccanicisticamente") o casualmente dalla materia inanimata? In questo caso si presenta allo scienziato il compito di indagare fino a qual punto sia possibile, secondo le leggi della fisica e della chimica, il formarsi della vita, ossia degli esseri viventi, dalla materia inorganica, inanimata.

7.02 ... o evoluzione?

Prime tracce di unicellulari: Grafite e Corycium

L'alternativa non è semplice come pare, e richiede subito un'altra distinzione: tutti gli esseri viventi furono creati in una volta sola, contemporaneamente, nell'infinita varietà di forme che presenta oggi il mondo degli animali e delle piante, oppure ebbero origine gradatamente, dapprima organismi semplicissimi, poi, sviluppandosi da questi, altri organismi più complessi. In altre parole: vi è stata e vi è un'evoluzione degli esseri viventi?

Se riflettiamo su questo argomento, ci pare estremamente inverosimile che animali così differenziati, così altamente sviluppati come un cavallo o un delfino, siano sorti per caso dalla materia senza vita e senza ordine. L'evidenza dei sensi ci insegna che essi derivano da antenati che avevano una struttura più semplice, che quindi soltanto gradualmente hanno avuto uno sviluppo superiore. In questo libro abbiamo tacitamente presupposto che gli organismi attuali derivano da altri molto più semplici e, in definitiva, da cellule isolate, delle quali le più primitive non possedevano un nucleo vero e proprio (vedi a p. 72). Noi abbiamo dunque anticipato la decisione: un'evoluzione è avvenuta.

Avendo appena imparato che l'evidenza visiva può condurre a deduzioni completamente sbagliate, dobbiamo essere alquanto più prudenti e vedere se possiamo trovare

prove tangibili per i presunti processi evolutivi. La cosa migliore sarebbe naturalmente poter disporre di esperimenti. Ma se risaliamo nei processi di evoluzione non solo di alcuni decenni, ma di milioni e miliardi di anni, non possiamo purtroppo più sperimentare. Lasciamo quindi la scienza sperimentale e passiamo alla scienza *storica*. (Nel frattempo vedremo ancora che in tale campo tuttavia alcuni problemi possono essere risolti con esperimenti, secondo concezioni moderne. Vedi a p. 290.)

Gli organismi di epoche precedenti non sono scomparsi completamente senza tracce; molti di essi ne hanno lasciate: sono i fossili, che si presentano come ossa, gusci e persino parti molli pietrificate. Chi non conosce il fossile commovente di quell'ittiosauro femmina (una lucertola d'acqua del Giurassico), che aveva appena partorito un piccolo quando fu sorpresa da una catastrofe? Cinque altri piccoli non poterono venire alla luce, ma rimasero pietrificati nel corpo della madre... Fortunatamente vi è una grande quantità di fossili in quasi tutti gli strati che rappresentano le epoche della crosta terrestre, dall'epoca in corso (l'Olocene, la parte più recente del Quaternario) fino al Cambriano, cioè fino allo strato inferiore dell'era Paleozoica, che è antica di circa 500 milioni di anni.

I paleontologi che si occupano dei fossili di origine vegetale ed animale e li ordinano secondo i vari strati di roccia ci possono dire con grande sicurezza che la varietà di specie e di forme di questi fossili diventa tanto minore quanto più antichi sono gli strati esaminati. Nell'Olocene si possono trovare, accanto all'uomo, tutti i gruppi di organismi di una certa entità, purché non fossero già estinti in epoche precedenti. Se risaliamo al Giurassico (cioè a circa 150 milioni di anni fa), troviamo che manca l'uomo. Vi si trovano i più antichi, i più primitivi degli uccelli; non si trovano tracce delle fanerogame. Nel periodo Devoniano (circa 350 milioni di anni fa) cerchiamo in-

vano le conifere, gli insetti ed i rettili; nel Cambriano inferiore vi sono soltanto alghe, coralli e spugne, brachiopodi ed antichi parenti delle odierne seppie.

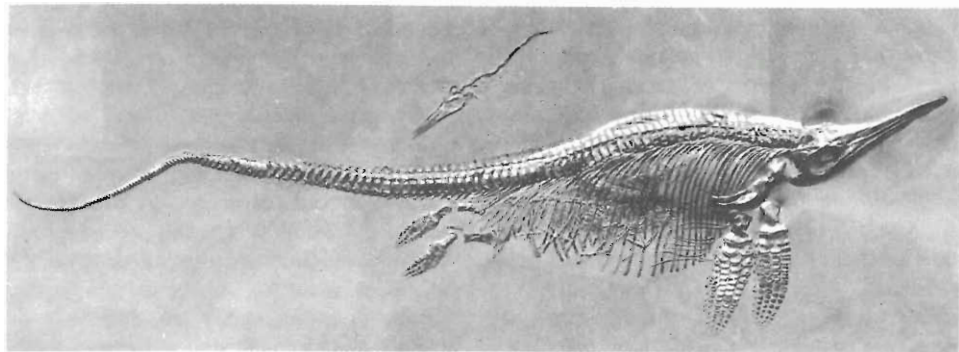
Negli strati ancora più antichi del Cambriano, cioè negli strati precambriani (dell'era arcaica, ossia dell'antichità remota), non c'è quasi traccia di fossili. È provata con sicurezza solo l'esistenza delle "alghe dell'Algonchiano" (lo strato precambriano più recente) che sono alghe unicellulari, di struttura semplice. Tuttavia non sono tanto semplici da poter essere considerate gli esseri viventi più antichi. Assomigliano invece un po' alle alghe più primitive tra quelle oggi viventi, quindi dovrebbero avere dietro di sé una lunga serie di antenati. Perciò anche il periodo algonchiano avrebbe dovuto contenere vita; non troviamo nessuna "copia" di organismi probabilmente perché non avevano ancora un guscio solido, contenente carbonati (CO_2), poiché allora prevaleva la concentrazione CO_2 .

Inoltre, anche se mancano fossili del periodo algonchiano, ci sono però altri indizi che dimostrano che a quei tempi esistevano già organismi. Vi è infatti una struttura caratteristica, denominata "Corycium", a forma di sacco, contenente carbonio; e qui bisogna anche citare una parte della grafite pre-

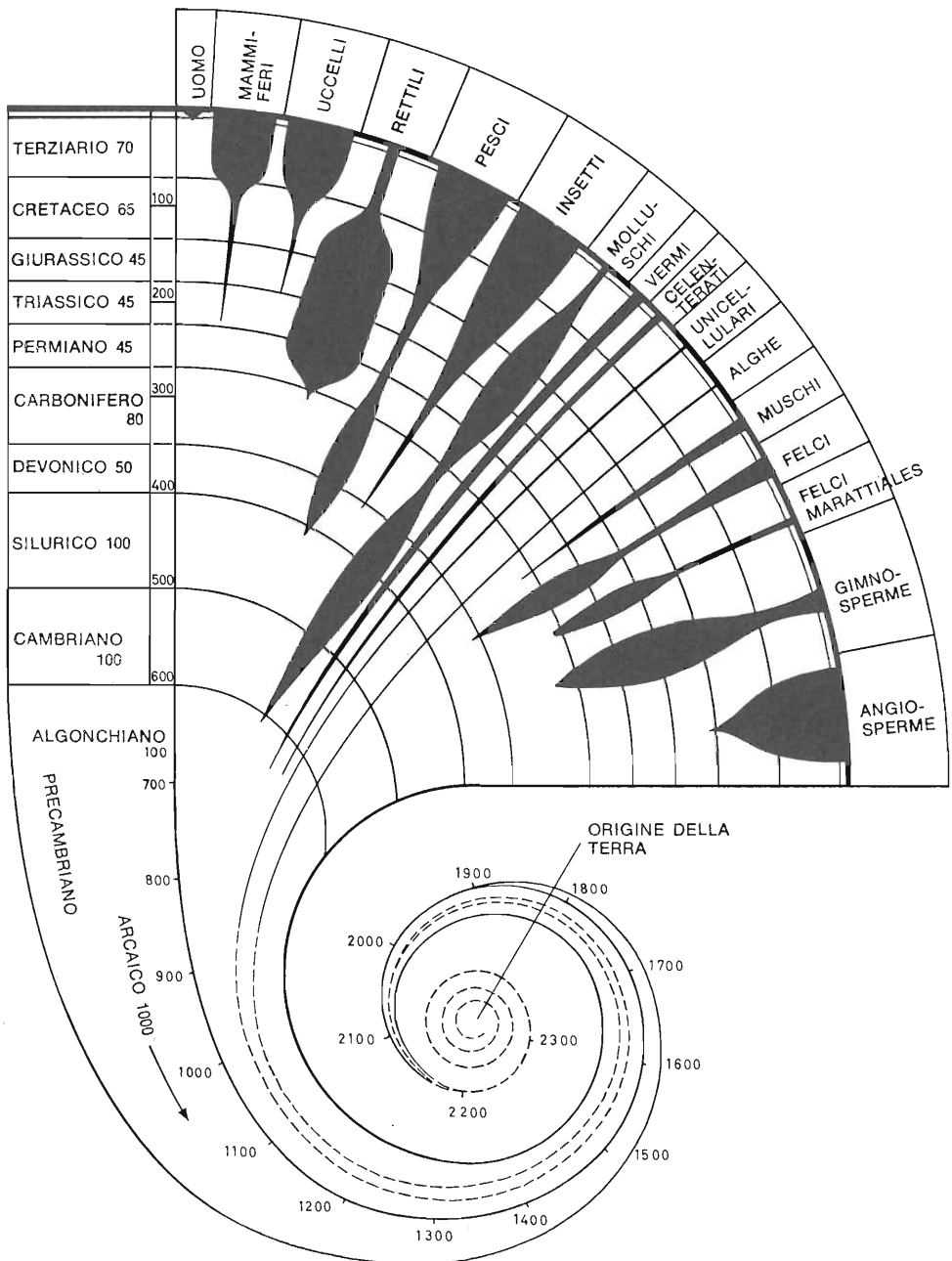
cambriana. Ma che relazione hanno con gli organismi?

Oltre al carbonio normale con peso atomico 12 (scritto C^{12}) c'è l'isotopo C^{13} più pesante (come pure, in uso nella chimica, biologia e medicina moderne, l'isotopo radioattivo irradiante C^{14} , che ci è noto dalle prove di marcatura di p. 60). Nei composti inorganici di carbonio di quel tempo, carbonati e carburi, il rapporto $\text{C}^{12} : \text{C}^{13}$ è assai costante. Nella grafite e nel Corycium invece il rapporto si è chiaramente spostato a favore del leggero C^{12} . Ma noi conosciamo soltanto un processo che preferisce in modo evidente ed incorpora l'isotopo leggero: il metabolismo degli organismi. Perciò oggi si ritiene con sicurezza che nella grafite e nel Corycium si scorgono le più antiche tracce (anche se non la copia) degli esseri viventi primitivi.

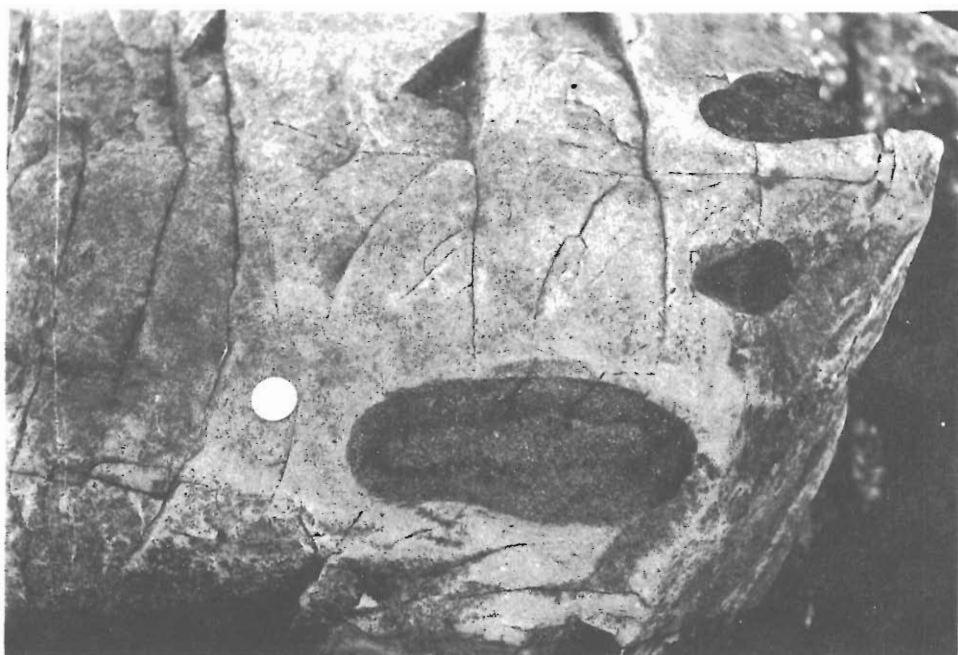
Da ciò si traggono due deduzioni. In primo luogo, la vita esiste con molta verosimiglianza da circa un miliardo e mezzo di anni sulla Terra. In secondo luogo, la successione della comparsa dei singoli gruppi di organismi (vedi figura a p. 279) è più di una tabella oraria: "successione" implica "derivazione", cioè i gruppi più recenti si sono sviluppati dai gruppi più antichi. Ciò non significa certo che gli uccelli "derivino" dal-



Femmina di ittiosauro sorpresa da una catastrofe dopo il parto di un piccolo (in alto). Altri cinque non vennero alla luce e si pietrificarono nel suo corpo.



Questa "spirale del tempo" indica il corso della storia della Terra e i tempi di comparsa dei differenti gruppi di organismi.



Accumuli di carbonio puro nella roccia (Corycium, detto fillite). Provengono da organismi antichi ammassati sul fondo del mare dalle ondate. A sinistra, per confronto, una moneta.

le felci e i mammiferi dalle seppie, ma che le gimnosperme (ad esempio le conifere) derivano dalle felci, le angiosperme (la massima parte delle fanerogame) dalle gimnosperme, gli uccelli dai rettili. Questi pochi esempi possono bastare. Conosciamo in vari casi forme intermedie che dimostrano tale sviluppo filogenetico. Ci può essere discussione intorno a determinati particolari, ma nessuno scienziato mette più in dubbio che all'inizio della vita ci fossero creature semplicissime, unicellulari o forme ancora più primitive: da queste nasce l'albero genealogico degli organismi, che con l'avanzare del tempo si ramifica sempre più fino a raggiungere la varietà delle forme d'oggi. A questo punto non si può tralasciare la precisazione del significato e dell'uso del termine "sviluppo". Esistono uno sviluppo

individuale, ed uno sviluppo concatenato delle forme nel corso della storia terrestre, dalle più antiche a quelle più recenti. Il termine di sviluppo dovrebbe essere usato solo per indicare le *successive modificazioni nel corso della formazione dell'individuo*, di quella cioè che è detta la sua "ontogenesi". Per il succedersi storico delle forme si usano i termini di "evoluzione" e di "filogenesi".

Lo svolgimento dell'evoluzione non è ancora noto in tutti i particolari. Ma il principio ci è familiare: mutazione e selezione, vale a dire cambiamento (ereditario) e scelta (spietata) delle più "adatte" fra le nuove forme. Se il principio ebbe effetto, si dovettero produrre organismi sempre più forti, sempre più complessi.

Abbiamo perciò avuto ragione quando ab-

biamo affermato che c'è stata un'evoluzione² e che esiste una filogenesi. Però questo non ci fa avanzare molto; il problema rimane difficile. Infatti, sappiamo che oggi non sorge alcuna vita ex novo, ma non ne sappiamo il perché. E come riuscire a sapere ciò che è avvenuto miliardi di anni fa? Le leggi chimiche e fisiche di oggi valevano già allora? E sappiamo come stessero allora le cose sulla Terra? E almeno allora, se non oggi, la vita poteva avere origine?

Il problema è in realtà difficile, ma non tanto da far fallire ogni tentativo di soluzione. Dobbiamo cercare aiuto in tutte le scienze della natura. Se per la filogenesi ci sono stati utili i paleontologi, questa volta ci aiuteranno gli astrofisici, i fisici che studiano le stelle.

7.03 Immagini della prima età della Terra

La divisione della sostanza in inorganica ed organica è superata

Gli uomini provano uno speciale impulso a scindere in due i fenomeni di questo mondo, e poi a contrapporre le due parti. Ciò che ne deriva è chiamato bene e male, chiaro e scuro, corpo e spirito... Queste coppie di concetti si mantengono in vigore, certo a causa della loro semplicità, generalmente a lungo, benché ognuno abbia osservato che una bipartizione può tutt'al più servire come aiuto per l'orientamento, e che una netta separazione, ad un esame più approfondito, non è affatto possibile.

Anche nel nostro campo troviamo una bipartizione, che riguarda la materia o, per dirla come i chimici, le sostanze: la divisione in sostanze "organiche" e "inorganiche". I composti organici sono quelli che contengono carbonio; gli inorganici tutti gli altri.

Questo non è però del tutto giusto. Ci sono infatti composti contenenti carbonio che anche i chimici definiscono inorganici, l'ani-

dride carbonica CO_2 , l'ossido di carbonio CO , e i carburi, composti del carbonio con metalli o boro o silicio (il carburo più noto è il carburo di calcio Ca_2C , usato un tempo per le lampade portatili). Ma queste potrebbero essere considerate eccezioni, poiché tutti gli altri composti contenenti carbonio sono materie organiche, ad esempio lo zucchero, gli aminoacidi, gli acidi nucleici e l'urea $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ che è prodotta dai reni.

In realtà per la distinzione fra questi due gruppi non è tanto determinante la presenza di carbonio, quanto il fatto che le sostanze dette organiche sono *contenute solo negli organismi e prodotte solo dagli organismi* (di qui il loro nome). Il mondo inorganico ha composti di tutt'altra natura, che non sono prodotti dagli organismi.

Si trattava di una distinzione netta (o quasi netta, poiché il CO_2 è indubbiamente prodotto dagli organismi, è il prodotto finale, energeticamente senza valore, della respirazione, tuttavia è considerato sostanza inorganica). La distinzione è stata giudicata per lungo tempo inconfutabile, anche fra i chimici! Il confine fra organico e inorganico era invalicabile.

Tuttavia proprio i chimici sono stati i primi che hanno unito i due mondi. Nel 1828 Friedrich Wöhler riuscì ad ottenere l'urea "artificialmente", sintetizzandola da anidride carbonica e da ammoniaca, senza enzimi o intervento di esseri viventi, cioè in via pienamente "abiotica" (lo sperimentatore naturalmente non è compreso). La sintesi invero fu persino relativamente facile: Wöhler dovette soltanto sottoporre la miscela ad alta temperatura e ad alta pressione.

I giudizi dei contemporanei sulla scoperta di Wöhler furono svariati. Alcuni si limitarono a canzonarlo: egli aveva soltanto imitato la natura ed anche in modo molto incompleto. Per ottenere ciò che l'organismo vivente riesce a fare, con tanta semplicità, alla temperatura del corpo e nell'ambiente consueto, Wöhler, ebbe bisogno di una tem-

peratura di 150 °C e di una pressione di 100 atmosfere.

La maggior parte dei colleghi nella stessa disciplina si espressero invece chiaramente in merito all'importanza della sintesi dell'urea; ciò che è possibile per l'urea deve riuscire anche con altre sostanze organiche. Lo sviluppo della "sintesi organica" ha dato loro ragione, ed oggi essi possono ottenere per sintesi migliaia di sostanze organiche, fra le quali alcune complicate come le vitamine e gli antibiotici.

Soltanto pochissimi chimici, però, presagirono che con l'impresa di Wöhler era stato fatto saltare il muro fra il mondo organico e quello inorganico, che le materie organiche forse potevano avere origine anche senza l'intervento del chimico, e infine che era stata addirittura aperta una strada, attraverso la quale ci si poteva avvicinare all'origine della vita sulla Terra.

All'infuori del mondo dei chimici e dei naturalisti, la novità quasi passò inosservata e non ne vennero tratte conseguenze. Così si mantenne il dogma del mondo scisso in due. E ciò doveva rivelarsi l'ostacolo più difficile per il tentativo di spiegare scientificamente, cioè in modo causale, l'origine della vita. Si continuò a credere che il materiale per la formazione degli organismi (cioè i composti organici) venisse prodotto esclusivamente dagli stessi esseri viventi, quindi mai in via abiotica. E con ciò si escludeva completamente che in un ambiente inorganico la vita avesse avuto origine per via naturale. O la vita non ha affatto un "inizio", ma è eterna e imperitura, spiegabile soltanto mediante un atto di creazione, oppure deve essere generata continuamente mediante la generazione spontanea (da ciò si spiega anche l'ostinazione con la quale proprio gli atei negavano le prove contro la generazione spontanea, fino al tempo di Pasteur).

Queste riflessioni vengono ora nuovamente sorrette dalle apparenze. Se nel nostro mondo presente cerchiamo il carbonio, il

componente indispensabile di tutti i composti organici, lo troviamo quasi esclusivamente sotto forma di anidride carbonica CO_2 o di carbonato di calcio CaCO_3 , cioè in forma ossidata, "senza valore energetico". Inoltre vi è anche naturalmente del carbonio più o meno puro, in forma non ossidata, quindi combustibile (come il carbon fossile, l'antracite e la grafite), il quale è dovuto all'azione degli esseri viventi, siano essi le felci o le equisetacee del Carbonifero, oppure gli esseri unicellulari del Precambriano. E il petrolio, questa miscela di idrocarburi di differente lunghezza molecolare, lo dobbiamo all'attività dei batteri. Ma tutto questo concorda con una bipartizione del mondo? No, non concorda! Nelle suddette considerazioni si era insinuato (insieme con altri) un grossolano errore di logica. Se oggi troviamo il carbonio soltanto nella forma ossidata, ciò non dimostra affatto che sia sempre stato così. Potrebbe darsi che un miliardo e mezzo di anni fa le cose stessero diversamente. Dobbiamo quindi in modo del tutto obbiettivo, senza alcun pregiudizio, cercare di venirne in chiaro.

Sulla Terra difficilmente potremo ottenere un risultato positivo. Ma nello spazio ci sono pure altri pianeti, oltre la Terra; c'è il Sole, dal quale la Terra "discende", e ci sono altre stelle fisse. In mezzo a tutti questi corpi celesti, ce n'è forse qualcuno che non è ancora così "evoluto" e che si trova allo stadio in cui si trovava la nostra Terra un miliardo di anni fa. In ogni caso vale la pena di venire a sapere dove e come si presenti il carbonio nell'universo, poiché ciò potrebbe fornirci delle indicazioni attendibili sulle condizioni del periodo Precambriano sulla Terra, più che non lo potrebbe fare una speculazione molto geniale.

La spettroscopia procura uno scandaglio per il reperimento del carbonio nell'universo

Ciò non è così difficile come di primo acchito potrebbe apparire. Proprio dalle stelle

fisse dell'universo, le quali sono analoghe o uguali al Sole, riceviamo costantemente notizie, informazioni, sotto forma di raggi luminosi. Il mezzo per captarle è rappresentato dall'esame spettroscopico. Naturalmente non ci è possibile discuterne per quanto riguarda tutte le particolarità fisiche, tanto più che ci interessano soltanto i risultati, e in prevalenza quelli che si riferiscono al carbonio. Basti ricordare che la luce solare, la quale ci appare bianco-gialla, non è, come è noto, uniforme, ma può essere scomposta, con mezzi appropriati, in uno "spettro", il quale va, come nell'arcobaleno, dal rosso al giallo, al verde, al blu fino al violetto (e all'ultravioletto). Esso contiene quindi onde luminose di diversa lunghezza, dal rosso con onde lunghe all'ultravioletto con onde corte. Tutte le sostanze incandescenti solide e liquide emettono uno "spettro continuo", in cui il rosso è collegato con l'ultravioletto, il quale sta all'altra estremità dello spettro, mediante una transizione graduale.

Invece gli atomi e le molecole dei gas emettono soltanto luce di lunghezza d'onda ben determinata. Oggi sono molto adoperate le "lampade a vapori di sodio" come illuminazione di gallerie o come segnalazione di passaggi pedonali. Esse contengono del sodio in forma gassosa ed emettono quasi esclusivamente luce giallo-arancio. Gli altri colori mancano, in modo che a questa luce gli oggetti variopinti appaiono pallidi.

Nello spettroscopio tali gas danno linee luminose molto nette ("linee di emissione") nel caso di gas allo stato atomico, oppure strisce alquanto slavate ("bande di emissione") nel caso di gas allo stato molecolare. Così si possono riconoscere i gas dalle loro linee o bande di emissione.

E ancora, se un corpo incandescente (quindi con spettro continuo) è avvolto da un involucro gassoso ("atmosfera"), le particelle di gas "ingoianno", cioè assorbono, dei settori ben determinati della luce che emana da questo corpo incandescente, provocando

la comparsa di linee scure nel suo spettro. Anche qui, a determinate linee o bande di assorbimento si possono far corrispondere determinati atomi o determinate molecole. Pertanto l'esame spettroscopico di un raggio luminoso fornisce uno scandaglio completo, anzi una scheda anagrafica, nella quale sono registrate tutte le specie di atomi e di molecole presenti nel corpo che emana la luce.

Ora, poiché le stelle fisse, come risulta da altre misurazioni, sono fluide soltanto nel nucleo, e sono invece gassose all'esterno, la luce che emanano contiene sia bande di emissione sia bande di assorbimento, cioè proprio quello che ci occorre per avere il maggior numero possibile di informazioni sullo stato del carbonio nell'universo.

È comprensibile che il Sole sia stato oggetto di particolare esame, essendo la stella fissa più vicina a noi e la più importante per la nostra vita. Com'era prevedibile, esso possiede tutte le specie di atomi presenti sulla Terra (ed anzi qualcuna in più), quindi anche il carbonio, l'idrogeno, l'azoto e l'ossigeno. Ma il carbonio non si trova allo stato atomico, bensì in combinazioni con se stesso (C_2 , bicarbonio), con idrogeno (CH , gruppo metinico) e con azoto (CN , cianogeno), *mai però in combinazione con l'ossigeno* (quindi né ossido di carbonio = CO , né anidride carbonica = CO_2). Ciò è sorprendente perché si è potuto accertare la presenza di altri ossidi, come l'ossido di boro BO , l'ossido di alluminio AlO , eccetera, e persino l'ossido di idrogeno HO . Tuttavia è certo che sul Sole non esiste carbonio ossidato!

Ciò che vale per il Sole, vale anche per altri tipi di stelle. Il Sole, come stella molto vecchia, appartiene al tipo G (stella gialla) e nella sua atmosfera ha delle temperature soltanto da 5 a 7 mila gradi. Altre stelle più giovani, come le stelle molto calde del tipo O, raggiungono circa i 25.000 gradi (in esse mancano completamente i composti di carbonio; in loro vece vi è il carbonio in

forma atomica). Sarebbe allettante seguire l'origine e il divenire dell'universo: ciò ci procurerebbe ancora altre novità circa il carbonio. Tuttavia dobbiamo limitarci al sistema solare, al quale appartiene la Terra. Per quanto sia importante riscontrare che il Sole non contiene ossidi di carbonio di nessuna specie, ciò però ci dice per il momento molto poco sulle circostanze che regnavano sulla Terra un miliardo e mezzo di anni fa. Perciò vogliamo rivolgerci ora ai pianeti del nostro sistema solare, da Giove a Mercurio.

Con essi la spettroscopia incontrava grandi difficoltà. In primo luogo non hanno luce propria, ma riflettono (modificandola) la luce solare. In secondo luogo, negli strati alti della nostra atmosfera terrestre, si trovano piccole quantità di ozono (O_3), che hanno la proprietà di inghiottire lo spettro da 2.900 Å in giù, cioè di tagliarne una parte, proprio quella più importante.

Nonostante tutte queste difficoltà siamo bene informati sul conto dei nostri vicini. Cominciamo con quello più piccolo e più vicino al Sole: Mercurio. Esso ha in realtà una atmosfera, ma così straordinariamente rarefatta, che possiamo trascurarla. I dati di misurazione sono situati per lo più al limite d'errore del metodo. Invece Giove, il pianeta più grande (il diametro è 11 volte quello della Terra, il volume 1350 volte, la massa 318 volte), è avvolto da una imponente atmosfera, spessa varie migliaia di chilometri, che si può osservare anche con un semplice cannocchiale. Vi si scoprono vaste macchie, che cambiano di forma e che alle volte si dissolvono. Si dovrebbe trattare di nubi, non di nubi di vapore acqueo, ma di metano CH_4 e ammoniaca NH_3 . A Giove mancano pertanto, proprio come al Sole, i composti del carbonio ossidato; al loro posto si presentano composti "ridotti" (quelli cioè dove al posto di O vi è H); per giunta essi sono ancora più fortemente ridotti (contengono più idrogeno) dei composti di carbonio del Sole: in questo vi è C_2 e CH , su Giove CH_4 . (Si è ten-

tato di scoprire anche altri composti di carbonio e idrogeno, come etano C_2H_6 o acetilene C_2H_2 , ma invano. Ciò non deve però meravigliarci, poiché tali composti sono su Giove probabilmente allo stato liquido, non gassoso: la temperatura superficiale, a causa della distanza dal Sole, è di $-135^\circ C$. Molti autori suppongono che la famosa macchia rossa su Giove non sia altro che un'isola di composti più pesanti, del carbonio con l'idrogeno, vagante in un gigantesco oceano di composti simili più leggeri. Da tali liquidi non possiamo attenderci delle linee spettrali.)

Saturno è un po' più piccolo di Giove, ma ancora più distante dal Sole: i vapori di metano e di ammoniaca lo avvolgono, e una parte dell'ammoniaca, a causa della temperatura superficiale ancora più bassa, è addirittura solida, per così dire "congelata". Infine Urano e Nettuno, 100 volte più grandi della Terra, presentano soltanto bande di metano, e nessuna banda di ammoniaca. Rimangono ancora da menzionare Venere e Marte, che sono i più simili alla Terra: Venere possiede CO_2 , Marte H_2O , O_2 e un po' di CO_2 .

Quindi la Terra occupa una posizione intermedia fra i grandi pianeti con CH_4 e il piccolo Mercurio senza un'atmosfera degna di nota. A che cosa è dovuto ciò? (E dietro vi è naturalmente la domanda: che relazione ha con l'origine della vita?) Per rispondere a questa domanda, dobbiamo scomodare ancora gli astronomi; questa volta dobbiamo descrivere lo sviluppo del nostro sistema solare.

Il divenire del Sole e dei suoi pianeti

Le stelle e i pianeti derivano da una condensazione di gas. (Su questo punto gli astrofisici e gli astronomi sono generalmente d'accordo, ma non completamente.) L'universo non è certo vuoto. Esso contiene attualmente in prevalenza delle stelle fis-

se. Ma anche fra le stelle, negli spazi interstellari, si trova della materia, parte in forma gassosa, cioè atomi isolati come idrogeno, elio e neon, parte in forma di polvere: piccolissimi cristalli di ghiaccio, di metano e di ammoniaca, di ossidi metallici e di carburi metallici. Questa materia è in ogni modo estremamente "rarefatta".

In certi punti del cielo si possono scorgere già ad occhio nudo delle "nubi" lucenti di forma irregolare. Esse contengono la stessa materia degli spazi interstellari, ma assai più densa (circa questa espressione "più densa" non dobbiamo farci un'idea esagerata: se potessimo comprimere una di tali nubi "dense", in modo che raggiungesse la densità del Sole, essa verrebbe ad avere soltanto un miliardesimo del suo diametro originario). Tali nubi possono per qualche motivo addensarsi in forme sferiche in modo da diventare stelle fisse, simili al Sole. In tale processo avviene un'enorme condensazione: insieme con le grandi pressioni si hanno reazioni termonucleari (come nelle bombe all'idrogeno) e la massa, la giovane stella fissa, incomincia ad ardere. Diventa un sole. Secondo ogni probabilità, nella formazione di una stella non tutta la materia circostante viene condensata. Ne rimane un residuo, che nel campo di gravità del giovane sole prende la forma di un disco piatto o di un fuso; ma non resta sempre così, si frantuma in varie parti, grandi e piccole, cioè nei precursori degli attuali pianeti (sono quindi chiamati anche protopianeti).

Queste parti a loro volta si condensano, secondo gli stessi principi che sono valsi per il Sole. Certamente, confrontate con la sua massa, queste parti sono molto piccole: la massa del Sole è oggi 333.434 volte la massa della Terra. Da ciò non si hanno reazioni termonucleari come per il Sole, ma soltanto riscaldamenti fino a temperature da 1.000 a 3.000 °C. Tale aumento di temperatura non si mantiene molto a lungo, poiché nel freddo glaciale dell'universo i pianeti raffreddano ben presto. Tuttavia la tem-

peratura transitoriamente alta (al di sopra del punto di fusione dei metalli) è sufficiente per generare un "nucleo" pesante. Attorno a questo galleggiano le sostanze più leggere, mentre le materie leggerissime formano un involucro gassoso: l'atmosfera primordiale. Essa è composta, analogamente alla materia degli spazi interstellari, in prevalenza da metano e da ammoniaca. Non devono mancare cianogeno, idrogeno ed acqua; mancano però l'ossigeno e l'anidride carbonica. L'atmosfera primordiale era pertanto ridotta e riducente (eccesso di idrogeno) e non ossidante (eccesso di ossigeno): e ciò vale per tutti i pianeti. Questo risultato importantissimo ci occuperà ancora molto, però dobbiamo prima seguire le sorti dei pianeti, che sono davvero molto diverse. Il raffreddamento susseguente alla condensazione provocò la formazione di una crosta solida sui pianeti e forse anche la nascita di un mare primordiale, il quale però all'inizio conteneva poca acqua. E l'atmosfera primordiale? Essa naturalmente avvertì per prima il raffreddamento. I pianeti distanti dal Sole giunsero a sfiorare lo zero assoluto (— 273 °C); quanto più vicina al Sole era la loro orbita, tanto più potente era l'irradiazione solare e più alta la temperatura sul lato rivolto al Sole. Si è ora abbastanza sicuri che già circa 2 miliardi di anni fa, cioè "poco prima" dell'origine della vita, la temperatura superficiale della Terra, come quella degli altri pianeti, era poco diversa da quella di oggi, quindi — 135 °C su Giove, + 20 °C sulla Terra, da + 60 °C fino a + 90 °C su Venere, e + 400 °C su Mercurio (lato esposto al Sole).

A causa di tali enormi differenze, anche l'atmosfera primordiale si sviluppò in modo molto diverso. Com'è noto, ogni particella di gas si muove molto velocemente nell'atmosfera, tanto più velocemente quanto più alta è la temperatura. Per tale alta velocità può accadere che essa sfugga dal pianeta e si perda nello spazio cosmico. Per citare un esempio: sulla Terra la velocità di una mo-

lecola di idrogeno (H_2) a 0 °C è di km 1,84 al secondo, a 20, o a 100, o a 400 gradi la sua velocità si moltiplica; in ogni modo essa supera il "valore critico" di 11,2 km/sec. Questo valore, come è noto dalla tecnica dei razzi, è la velocità che una particella, una molecola di gas o una capsula spaziale devono raggiungere per superare la forza di gravità e per allontanarsi dalla Terra.

Quindi i pianeti vicini al Sole, caldi o caldissimi, perdono più gas (e più numerose specie di gas) dalla loro atmosfera primordiale che quelli lontani dal Sole e freddi. Ma la temperatura non è certo l'unico fattore che modifichi la composizione dell'atmosfera primigenia. In senso opposto agisce la forza di gravità, la quale attira a sé ogni massa. Quanto più grande è la massa di un pianeta, tanto più tenacemente trattiene la molecola di gas nel suo ambito.

Ora nella forza di gravità è certamente sempre questione di due oggetti che si attraggono l'un l'altro, cioè non soltanto la massa del pianeta fa la sua parte, ma anche la massa della particella di materia appartenente all'atmosfera. Quanto più pesante è la particella di gas, tanto più fortemente essa viene attratta dal pianeta, e quindi è minore la possibilità che essa sfugga nello spazio cosmico.

Osserviamo ora i pianeti Giove e Saturno sotto questo aspetto. Entrambi, in confronto con la Terra, hanno una grande massa e un forte campo di gravità. La temperatura della superficie è molto bassa, lo stesso dicasi per la velocità delle molecole di gas. Amedue i fattori agiscono nella stessa direzione: concorrono a conservare l'atmosfera primordiale. Si poteva quindi dire fin dal principio che l'atmosfera attuale di questi due pianeti ha praticamente la stessa composizione di quella primordiale. Inoltre le indagini spettroscopiche hanno accertato anche la presenza di metano e di ammoniaca.

In Mercurio invece la piccola massa, quindi la piccola forza di attrazione, inoltre l'alta

temperatura = l'alta velocità della molecola di gas hanno provocato a poco a poco la perdita di tutta l'atmosfera iniziale; oggi il pianeta gira attorno al Sole come un nudo frammento di roccia, senza alcun apprezzabile involucro gassoso.

E veniamo infine alla Terra. Ancora una volta si trova in posizione intermedia fra il pesante e freddo Giove e il leggero e caldissimo Mercurio. Le conseguenze nella composizione della sua atmosfera sono che i gas leggeri, come l'idrogeno, l'elio ed anche il neon, sono in tutto o in parte andati perduti. L'elio ad esempio, che come "gas nobile" non entra in composizione con altri atomi, è sparito senza lasciare residui (l'elio che si trova oggi sulla Terra è di origine secondaria: deriva da reazioni radioattive). Anche una gran parte dell'idrogeno libero è passata nello spazio cosmico, perché il campo di gravità è piccolo e la temperatura (inizialmente) alta. Nei composti più pesanti, H_2O , NH_3 e CH_4 , è ancora rimasto abbastanza idrogeno da poter mantenere l'atmosfera riducente. Anche l'ossigeno libero è abbastanza pesante da poter essere trattenuto. Tuttavia non lo troviamo (ancora) per lunghi periodi di tempo: viene assorbito avidamente dai metalli e da altre sostanze prive di ossigeno, con cui forma ossidi metallici e simili. Anche il CO_2 manca completamente. A mano a mano che si formava, reagiva immediatamente con le enormi quantità presenti di silicati, trasformandoli in carbonati ed in biossido di silicio SiO_2 (sabbia, ciottoli).

L'atmosfera primordiale terrestre di 2 miliardi d'anni fa era considerevolmente più povera di idrogeno libero di quanto lo fosse, e lo sia tuttora, l'atmosfera del Sole e dei pianeti pesanti. Anche la quantità di azoto doveva essere diminuita, e l'acqua era presente in parte come vapore, in parte come liquido di un mare "primordiale". Tuttavia l'atmosfera era ancora sempre riducente: possedeva idrogeno in eccesso, sebbene in forma combinata (CH_4 , eccetera). A questa atmosfera riducente corrisponde la com-

parsa del carbonio in forma ridotta (il carbonio dei carbonati appartiene alla crosta rocciosa, alla litosfera).

Dall'atmosfera primordiale al limo primordiale

Abbiamo descritto molto particolareggiatamente l'ordine e le modificazioni dell'atmosfera primordiale. Il lettore si meraviglierà molto di tutte queste notizie di carattere astronomico, geofisico e geochimico in un libro di biologia, e vorrà sapere perché ci siamo occupati con tanta ostinazione dell'atmosfera primeva, e perché attribuiamo tanta importanza al fatto che fosse *riducente* e che quindi anche il carbonio, la sostanza fondamentale di tutti i composti di natura organica, sia esistito in forma ridotta. In fin dei conti gli esseri viventi possono aver avuto origine nell'acqua e quindi non nell'aria. Che relazione c'è con il metano, l'ammoniaca e il cianogeno nell'aria?

Ora, si può dare rapidamente una risposta almeno provvisoria: l'atmosfera primordiale si condensa nel mare primordiale, che esiste molto presto sulla Terra e contiene acqua (non, come sul freddo Giove, idrocarburi). Non è naturalmente acqua "pura", poiché si raccoglie sulla crosta rocciosa e vi si sciolgono dei sali inorganici delle specie più diverse. Non soltanto dal basso vengono immesse sostanze in questo mare, ma anche dall'atmosfera. Le piogge e i temporali possono essere stati in quel tempo più numerosi e più violenti di oggi. Con l'acqua piovana furono portati nel mare primordiale delle sostanze che facevano parte dell'atmosfera: ammoniaca in forma di NH_4OH , cioè idrossido di ammonio, e cianogeno in forma di HCN , ossia acido cianidrico (detto comunemente acido prussico). Entrambe queste sostanze hanno una grande propensione a reagire, perché sono ridotte e riducenti; ciò spiega finalmente perché noi tendevamo sempre a definire l'atmosfera primordiale come riducente. Le sostanze os-

simate come CO_2 o N_2 sono straordinariamente lente a reagire, da esse perciò c'è da aspettarsi ben poco. Per contro i composti contenenti idrogeno possono ad esempio trasferire il loro idrogeno su altre sostanze riducendole, mentre nel contempo esse vengono ossidate. Nel mare primordiale pertanto si hanno già reazioni chimiche di diverso genere. Si tratta però sempre di reazioni inorganiche e per lungo tempo non si può parlare di vita. Al contrario, a causa del contenuto, benché esiguo, di acido prussico, quel mare primordiale è nettamente velenoso per gli esseri viventi (attuali), è quindi ancora ostile alla vita.

Ma ciò è soltanto l'inizio. Oggi la nostra atmosfera terrestre è ossidata, poiché contiene anidride carbonica, acqua, ossigeno e azoto. In qualche momento e in qualche modo deve essere avvenuto questo passaggio dallo stato ridotto allo stato ossidato. Per ossidazione s'intende, nel significato originale della parola, l'assorbimento di ossigeno. Dove venne questo ossigeno? Esso derivò quasi esclusivamente dall'acqua e dal vapore acqueo dell'atmosfera terrestre. Ora l' H_2O non è altro che idrogeno completamente ossidato. Abbiamo imparato dalla chimica scolastica che una miscela di gas idrogeno e di gas ossigeno, chiamata gas tonante, reagisce molto violentemente: in questo processo si libera molta energia sotto forma di calore. Se viceversa l'acqua deve essere nuovamente scomposta in idrogeno ed ossigeno, deve essere a tale scopo impiegata altrettanta energia quanta ne venne liberata nella loro unione. Ma chi deve fornire tale energia?

È la luce solare, e in particolare la parte formata dai raggi ultravioletti, che hanno onde corte. Oggi ne giunge ben poca sulla superficie terrestre, perché la maggior parte dell'irradiazione ultravioletta è assorbita da uno strato di ozono (a grande altezza), e dai vapori della zona più bassa (dobbiamo dire fortunatamente, perché il poco che "riesce a passare" ci può scottare la pelle

in breve tempo nei bagni di sole. Se fossimo esposti ad una luce ultravioletta non indebolita, dovremmo difenderci da essa per non perire). Due miliardi di anni fa non c'era ancora ozono (O_3 , la cui molecola è composta di 3 atomi di ossigeno), ma c'erano metano ed acqua. Le molecole di metano ed acqua assorbono del pari l'irradiazione ultravioletta ricca di energia, con il risultato che una molecola d'acqua si scinde in idrogeno ed ossigeno, mentre il metano viene scomposto in idrogeno e in composti più poveri di idrogeno come CH_2 , CH_2 e CH . Il leggero idrogeno per la maggior parte si è perduto nel cosmo, mentre gli idrocarburi e *soprattutto l'ossigeno* sono rimasti: l'atmosfera così è diventata via via più povera di idrogeno e più ricca di ossigeno.

Fino a quando la litosfera, specialmente il ferro, non fu ancora completamente ossidata, assorbì avidamente l'ossigeno. Ma un bel giorno anch'essa fu sazia di ossigeno, e allora venne la volta dei componenti dell'atmosfera: NH_3 si ossidò in azoto molecolare ed NO_2 , l'idrogeno solforato presente H_2S diventò SO_2 , oppure acido solforico, CH_4 diventò CO_2 , e soltanto in seguito si ebbe ossigeno libero. Ciò non avvenne di colpo; si calcola infatti che, per la trasformazione dell'atmosfera in forma ridotta nell'odierna atmosfera in forma ossidata, siano stati necessari da 1 a 1,2 miliardi di anni. Il compimento di tale trasformazione avrebbe dovuto avvenire all'incirca nell'anno 800.000.000° prima dell'era attuale. Durante tale modificazione deve essersi attuata l'origine della vita sulla nostra Terra.

L'ossidazione non è avvenuta però in modo che ogni molecola di CH_4 sia subito stata ossidata a CO_2 ; ciò procedette invece (e procede ancora oggi) attraverso molti stadi intermedi: alcool (come l'alcool metilico), aldeidi (come la formaldeide o formalina), acido formico ($H\cdot COOH$) e molti altri ancora. Queste sostanze non rimasero esclusivamente nell'atmosfera ma, mediante le piogge incessanti, finirono nel mare. Qui

furono in un primo tempo protette contro altre ossidazioni; si incontrarono con l'ammoniaca e con l'acido cianidrico (i quali poterono essere ossidati a poco a poco). E poiché sono tutte particolarmente suscettibili di reazione, dovette avere inizio un'intensa modificazione delle sostanze stesse. I prodotti delle reazioni furono fra l'altro anche gli aminoacidi e le basi organiche del tipo adenina!

Così il mare primordiale, che inizialmente conteneva in soluzione soltanto minerali, divenne a poco a poco una "poltiglia" primordiale, con una grande quantità di sostanze organiche, e rappresentò un ambiente favorevole per nutrire i primi e rudimentali esseri viventi. (L'acido prussico frattanto aveva reagito con altre sostanze e aveva perduto la sua velenosità.) Questo, per così dire, "brodo di coltura", contenente vere sostanze organiche, avendo avuto origine senza l'intervento di alcun essere vivente era di provenienza puramente inorganica.

Confronti di tempi: 40 secondi prima della mezzanotte appare l'uomo

Il lettore ricorda che nel primo capitolo di questo libro si diceva che le combinazioni organiche, a differenza degli ioni inorganici reagiscono reciprocamente soltanto con grandissima lentezza; quindi gli organismi si sono creati acceleratori di reazioni sotto forma di enzimi, in presenza dei quali le stesse combinazioni organiche si compiono più prontamente.

Spieghiamoci meglio. A p. 16 è scritto «Se mescoliamo glicerina e acidi grassi (che sono le pietre da costruzione delle sostanze grasse), anche dopo giorni interi non rintracceremo grassi». Questo è ancora vero. Ma dobbiamo chiarire che, per le reazioni avvenute nell'atmosfera primordiale e nella poltiglia primordiale, è necessario tener presente che i periodi di tempo sono totalmente diversi da quelli degli esperi-

menti in provetta. Per il passaggio dall'atmosfera primordiale all'atmosfera ossidata di oggi, per l'origine della poltiglia primordiale, i geochimici hanno valutato una durata da 1 a 1,2 miliardi di anni. Che cosa rappresentano dunque alcuni giorni?

Poiché è difficile immaginare in modo adeguato un periodo di un miliardo di anni con la nostra esperienza, cerchiamo di chiarire l'idea. Contrariamente a quanto abbiamo fatto alla p. 138, nella quale abbiamo esteso un millimetro tanto che andava dal polo all'equatore, questa volta dobbiamo condensare. Prendiamo quindi i due miliardi di anni che sono trascorsi dalla formazione della crosta terrestre e dell'atmosfera primordiale, e li facciamo stare nelle 24 ore di una giornata. 80 milioni di anni sono quindi un'ora di questo giorno, un minuto è circa 1,2 milioni di anni, un secondo 20.000 anni. Ciò significa che se alla mezzanotte, cioè all'ora zero, è cominciata la trasformazione dell'atmosfera e la formazione della poltiglia primordiale, alle ore 12, cioè a mezzogiorno, essa era compiuta, e così aveva inizio il periodo Precambriano. Il passaggio dall'Algonchiano al Cambriano è avvenuto alle 18. Quando è comparso l'uomo per la prima volta? 40 secondi prima della mezzanotte successiva.

Il nostro tempo "storico", che facciamo cominciare all'incirca dai Sumeri, 6.000 anni prima di Cristo, non abbraccia neppure un mezzo secondo; la vita di un uomo trascorre letteralmente in un lampo (1/250 di secondo).

Visti così, gli alcool, le aldeidi e gli acidi, piovuti dal cielo, ebbero abbondantemente il tempo di reagire vicendevolmente, anche senza gli enzimi adatti. (Considerando la cosa in senso opposto: la comparsa — ipotetica — della vita è stata così lenta, perché lenta è stata la sintesi degli elementi costitutivi degli organismi.)

Ma è davvero dimostrato che la storia della Terra si è svolta così e non altrimenti, oppure dobbiamo rifiutare queste spiegazioni

come fantasticherie? Ogni scienza storica ricostruisce i processi ed i rapporti del passato, non semplicemente escogitandoli, ma riferendosi a "fonti", testimonianze, confronti. Lo storico trova queste testimonianze negli scritti delle età passate, trova edifici, oggetti, monete, eccetera, e cerca di comporre tutto quanto in un quadro il più possibile coerente. Quando lo studioso prende a descrivere la storia degli organismi per un periodo di un miliardo di anni, o la storia del cosmo per sei miliardi di anni, trova testimonianze di un altro tipo: ossa, fossili e strati di roccia, nei quali può analizzare chimicamente con sufficiente precisione tracce di composti. Egli è in grado, mediante la precisa conoscenza delle leggi fisiche e chimiche, di accertare quali svolgimenti siano stati possibili e quali no. L'elenco potrebbe fortunatamente essere esteso notevolmente, e ci rafforzerebbe nel concetto al quale siamo nel frattempo pervenuti: le ricostruzioni non sono speculazioni senza consistenza, ma si fondano su deduzioni più o meno giuste. Esse non sono dimostrate (e peggio ancora, non sono dimostrabili) con esattezza. L'estrema certezza potrebbe essere data soltanto dall'esperimento, che però non può essere eseguito. Oppure sì?

Gli esperimenti dimostrano che il limo primordiale era nutriente

Un gruppo di scienziati americani, sotto la guida di Stanley Miller, non si è lasciato impressionare dall'affermazione che nel campo della storia non vi è alcuna possibilità di fare esperimenti. Essi si sono detti: supponiamo che l'atmosfera primordiale sia stata effettivamente costituita da metano, ammoniac e vapore acqueo (con un po' di idrogeno). Perché non provare ad immettere un certo volume di gas così composto in un recipiente di vetro, e ad apportare a questo "insieme" dell'energia, ad esempio

mediante raggi ultravioletti o, il che è ancora più semplice, mediante scariche elettriche? In tal modo dovrebbero formarsi sostanze organiche, ad esempio aminoacidi! (Le scariche elettriche non sono un'idea senza fondamento, poiché i geofisici e i geologi hanno sempre affermato che sul mare primordiale non soltanto pioveva, ma c'erano pure lampi e tuoni, probabilmente in misura più frequente che ai nostri giorni. Essendo questo avvenuto per un miliardo di anni, può essersi accumulata una grande quantità di prodotti di queste reazioni.)

Essi costruirono un'apparecchiatura semplicissima. Una porzione di atmosfera primordiale artificiale, cioè metano + ammoniaca + idrogeno, fu immessa in un pallone di vetro, al quale furono saldati due elettrodi. Fra di essi furono costantemente scoccate scintille (i "lampi"). In un secondo pallone di vetro più piccolo fu riscaldata dell'acqua; il vapore acqueo così originato perveniva, attraverso un tubo di vetro, nel pallone delle reazioni. I prodotti delle reazioni giungevano, mediante un tubo di raccordo posto in basso, in una zona fredda ("pioggia") da cui passavano in un tubo ad U. Qui erano trattenute le sostanze liquide; quelle volatili riaffluivano con nuovo vapore d'acqua nel pallone dell'acqua, e il circolo aveva nuovamente inizio.

Dopo che l'esperimento fu continuato ininterrottamente per un'intera settimana, i ricercatori analizzarono il risultato (il limo primordiale) e subito vi trovarono 5 aminoacidi: glicina, alanina, β -alanina, acido aspartico, e acido α -aminobutirrico; oltre a ciò, ancora una sostanza gialla con un peso molecolare abbastanza alto.

Incoraggiati da questi risultati interessantissimi, essi ripeterono molte volte l'esperimento, variandone spesso le condizioni. Ciò servì anzitutto per accertare che gli aminoacidi non derivavano da batteri introdottisi. L'apparecchiatura fu sterilizzata durante 18 ore a 130 °C. Essa era così certamente scevra da batteri, e tuttavia diede gli stessi

composti. Inoltre veniva dimostrato che effettivamente sono le scariche elettriche a dare origine ai composti organici: senza le scintille venivano a mancare completamente gli aminoacidi. L'analisi non fu fatta soltanto alla fine dell'esperimento, ma vennero prelevati campioni a brevi intervalli di tempo. Le analisi intermedie indicarono chiaramente che la quantità di ammoniaca diminuisce subito dopo l'inizio dell'esperienza, in modo molto regolare; per contro la sintesi degli aminoacidi avviene dapprima lentamente e dopo circa 5 giorni raggiunge un valore costante.

Soprattutto interessante il fatto che l'apparecchiatura, in base ai risultati raccolti, non ha prodotto soltanto 5 aminoacidi, ma il doppio. Oltre ad essi vi erano urea e metilurea, poi composti acidi del carbonio privi di azoto, fra i quali acido acetico, acido lattico e acido succinico, acidi i quali ci sono ben noti come prodotti intermedi del ricambio dei carboidrati delle cellule viventi. In complesso circa due dozzine di sostanze organiche di basso peso molecolare avevano avuto origine in via sperimentale da un'atmosfera (artificiale) primordiale, con processo completamente abiotico.

Questo avvenne nel 1953. Le relazioni di Miller e dei suoi collaboratori furono accolte in un primo tempo con sufficienza e scetticismo. Ma ben presto fu chiaro che tali esperimenti rappresentavano realmente un punto cruciale per le ricerche sull'origine della vita. Keosian coglie nel segno quando scrive (1964): «L'aura metafisica che avvolgeva il problema è stata rimossa; ora si può discutere e sperimentare seriamente».

E infatti si è sperimentato. Da tutte le parti del mondo gli scienziati hanno annunciato che i risultati di Miller erano stati confermati, e che ciascuno aveva potuto avere risultati positivi anche modificando il metodo. In luogo delle scintille elettriche sono state impiegate altre fonti di energia: calore, luce visibile, luce ultravioletta, raggi Röntgen, ra-

diazioni ionizzanti, ultrasuoni. Invece del metano come fonte di carbonio, sono stati usati la formaldeide, il monossido di carbonio e persino l'anidride carbonica, e, invece dell'ammoniaca, l'azoto. Inoltre si è indagato se la formazione di sostanze organiche avvenga anche in un ambiente acquoso: sempre si sono ottenuti gli stessi risultati. Ebbero così origine aminoacidi, acidi organici privi di azoto e persino zucchero. Particolarmente copioso fu il risultato di un esperimento, nel quale furono riscaldati per 18 ore, a 90 °C, acido cianidrico (acido prussico) liquido e soluzione acquosa di ammoniaca. Si ottennero non meno di 75 aminoacidi e altre sostanze analoghe ad essi; inoltre 50 acidi non aminici. Per giunta comparvero anche dei "polimeri", cioè molecole più grandi formate da una fila di piccole molecole di altre sostanze. Però dovette sempre essere osservata una determinata condizione: *la miscela reagente doveva essere riducente!*

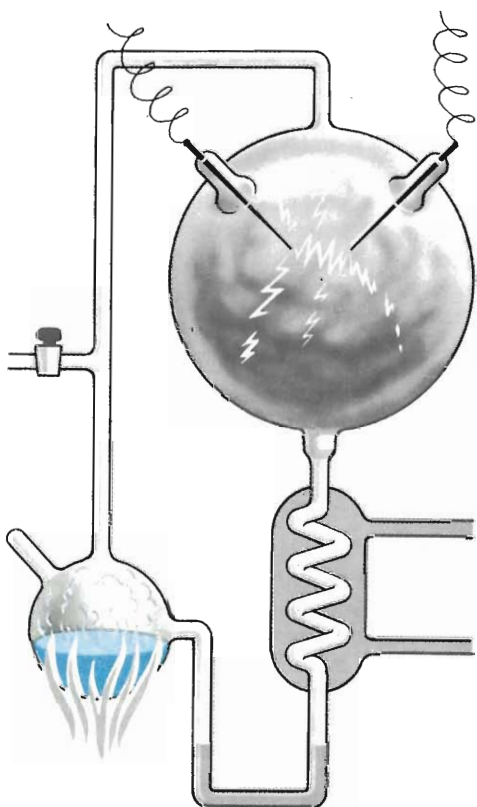
Può darsi che l'ultimo esperimento citato non corrispondesse interamente alle condizioni presenti nel mare primordiale, ma ciò che avviene nello spazio di 18 ore alla temperatura di 90 °C potrebbe essere avvenuto in alcuni milioni di anni ad una temperatura da 20 °C a 30 °C.

Mancavano ancora, nelle relazioni degli sperimentatori, le purine e le pirimidine, cioè le basi organiche che abbiamo conosciuto come il materiale da costruzione degli acidi nucleinici. Ma già nel 1961 fu trovata l'adenina; nel 1963 si aggiunsero la guanina e l'adenosina e, cosa quasi incredibile, il mono-, di- e trifosfato di adenosina (AMP, ADP e ATP): quest'ultimo è l'"accumulatore" universale di energia della cellula. *Tutto questo nelle condizioni che devono aver prevalso al tempo del limo primordiale.* (L'adenina, ad esempio, dal metano, dall'ammoniaca e dall'acqua sotto un forte bombardamento elettronico.)

Così non rimane più alcun dubbio: nella soluzione primordiale non c'era all'inizio anco-

ra alcuna vita, però vi era abbondanza di sostanze organiche; vi erano rappresentate quasi tutte quelle che oggi troviamo negli esseri viventi. Un miliardo e mezzo di anni fa il mondo non era ripartito in un settore organico e un settore inorganico; i composti organici sorsero (abioticamente!) con trasformazioni chimiche di sostanze inorganiche. Si può addirittura affermare che i composti organici sono la continuazione del mondo inorganico in altra forma (cioè in mutate condizioni ambientali).

In questo modo fu risolto un importante problema relativo all'origine della vita sulla Terra (e fu risolto in via sperimentale!): la



Apparecchio di Miller per produrre composti organici partendo da metano, ammoniaca e acqua.

poltilgia primordiale era un'eccellente soluzione nutritiva, poiché conteneva in quantità sufficiente e in sufficiente assortimento il primo nutrimento per i primi organismi. Però ora sorge subito un altro problema: come hanno avuto origine questi primi organismi, le prime cellule?

Anticipiamo la risposta: su questo punto non sappiamo quasi niente, in ogni caso molto meno che sull'origine dei composti organici. Attualmente non possiamo fare altro che ricorrere a supposizioni che si prestano poco alla prova sperimentale, ma che sono abbastanza interessanti: vorremmo approfondirle.

Tutte si basano sull'ipotesi (o sul fatto reale?) che le sostanze organiche vaganti nel limo primordiale non si trovassero mescolate le une con le altre senza che si stabilissero rapporti reciproci: esse reagivano tra di loro secondo la loro tendenza a formare legami chimici, cosicché il limo primordiale era ricco di reazioni chimiche. (È dubbio che una concentrazione tra l'1 e il 10 % possa essere considerata ricca di reazioni; tuttavia, tenendo presente che vi era a disposizione un tempo quasi infinito, l'espressione può calzare.) Tali reazioni chimiche possono già essere definite come ricambio organico?

7.04 Il primo ricambio organico

I coacervati sono i modelli della prima cellula?

In senso classico, il ricambio deve essere inteso nell'aspetto chimico-fisiologico. Non ogni trasformazione chimica è già in sé un ricambio, il quale invece è concepito come processo riguardante le cellule viventi. Anche un titolo del primo capitolo è formulato in questo senso classico: *La vita considerata come ricambio*. Vi abbiamo riscontrato che l'intero ricambio è composto da una quantità di singole trasformazioni chimiche ben comprensibili, le quali, ognuna

per sé, si svolgono anche fuori della cellula vivente, cioè in provetta.

Si potrebbe ora obiettare che la caratteristica essenziale del ricambio è quella di armonizzare e coordinare la molteplicità delle singole reazioni, e che ciò è possibile soltanto nella cellula vivente. A ciò si potrebbe opporre che la sintesi proteica è senza dubbio un sistema coordinato di molte reazioni singole cui partecipa tutta una serie di sostanze indicate a p. 56, e che, incluso il meccanismo della codificazione, fa parte essenziale del ricambio. Ma se poniamo queste sostanze, che devono reagire, nelle condizioni adatte, anche fuori della cellula, cioè in provetta, le reazioni si compiono. Perciò almeno il coordinamento non si effettua soltanto all'interno della cellula. Allora, dove tracciare un confine tra reazione chimica semplice e ricambio coordinato? Non dobbiamo irritarci contro la giovane generazione di scienziati, che di fronte ad una definizione tanto incerta non rispetta certe consuetudini sacre e parla senza esitazioni di ricambio nel limo primordiale.

Tale ricambio, confrontato con quello degli organismi, era senza dubbio semplice, o meglio rudimentale. Ma finiva con l'obbedire alle medesime leggi: composti ricchi di energia se ne liberano e si trasformano in composti poveri di energia; se diverse reazioni si abbinano, l'energia liberata da una di esse è impiegata in altre per una sintesi che consuma energia. In simile ambiente, operante il ricambio (in inglese si dice in modo più corretto *metabolizing*), è "soltanto" più necessario che piccole zone si isolino, cioè si circondino di una membrana, ed ecco già formata la cellula più primitiva.

Il "soltanto" di cui sopra indica un passo decisivo e non ancora compreso. Abbiamo già riscontrato che si possono formare spontaneamente delle pellicole mono- e bimolecolari dal materiale lipoidico esistente (p. 155). Si può anche pensare che tali pellicole si siano disposte intorno a porzioni di

imo primordiale di forma all'incirca sferica. Una porzione così racchiusa sarebbe ben delimitata rispetto all'ambiente circostante, ma non completamente segregata, poiché le membrane lipidiche sono permeabili in un certo grado. Quindi nuove sostanze nutritive possono penetrare, se quelle dell'interno sono consumate.

Tali fragili formazioni, sorte casualmente, sono certo molto instabili, ed hanno tendenza a dissolversi subito, non avendo possibilità di continuare il loro ricambio. La probabilità che esse si mantengano a lungo è scarsa, ma può aumentare quando il numero delle singole reazioni nella gocciolina è sufficientemente alto e quando le singole reazioni sono adeguatamente accoppiate l'una all'altra: in tale caso il ricambio può essere mantenuto, e con esso il "sistema" gocciolina + membrana lipidica.

(Già a questo livello, in cui non si può ancora parlare di vere cellule viventi, ma in ogni modo di ammassi di molecole e di reazioni, subentrerebbero un processo di selezione ed un'evoluzione. Ma di ciò parleremo più tardi.)

Altri scienziati hanno ideato "modelli" differenti, fra i quali anche i "coacervati", oggi ancora molto discussi. Con ciò s'intende una particolare "flocculazione in una soluzione". Se questa soluzione contiene notevoli quantità di molecole idrofile, queste sono circondate da un "involucro" di acqua, come avviene nell'elica delle proteine (vedi figura a p. 29). Normalmente questo velo acquoso non ha un limite netto; le molecole d'acqua situate immediatamente alla superficie della macromolecola sono legate da grandi forze, ed anche ben ordinate. Quanto più procediamo verso l'esterno, tanto più s'indebolisce il legame e si perde l'ordine, finché l'involucro d'acqua passa senza confini ben definiti nell'acqua libera dell'ambiente circostante.

In determinate condizioni, ad esempio dopo l'aggiunta di certi sali, la carica di una molecola o di un gruppo di molecole è varia-

ta; contemporaneamente variano anche le forze che trattengono insieme l'acqua; l'involucro acquoso viene ridotto ed insieme nettamente delimitato. In seno alla soluzione avviene così una "separazione": una fase più densa, meno ricca di acqua, il coacervato, si separa da un "liquido in equilibrio". Questo è ricco d'acqua, contiene però anche molecole sciolte, e quindi non consiste di acqua pura. Il coacervato non forma uno strato, ma vaga nel liquido sotto forma di numerose piccolissime goccioline. Tali goccioline sono troppo grandi per poter consistere solo di alcune molecole o gruppi di molecole; invece sono costituite da numerose molecole, ognuna con il suo involucro d'acqua originale nettamente delimitato, che si ammassano insieme. Esse possiedono ora un involucro d'acqua in comune che le separa dal liquido (vedi figura a p. 295) e che tutte assieme le delimita. Questi semplici coacervati possono essere formati abbastanza facilmente; hanno però una vita breve come le goccioline con membrana lipidica. La minima variazione nel contenuto d'acqua, nella carica elettrica, nella temperatura, eccetera, provoca nella maggior parte dei casi la dissoluzione dei coacervati annullando contemporaneamente la separazione che si era prodotta.

Nei "coacervati complessi", invece, si sono introdotte delle particelle con carica opposta. Con tale carica, le particelle si attirano vicendevolmente, però soltanto nella misura permessa dagli involucri d'acqua. Si stabilisce un equilibrio fra le forze che attirano e quelle che respingono, e così il sistema risulta notevolmente più stabile di un semplice coacervato.

I fisicochimici hanno prodotto coacervati complessi con i componenti più svariati e ne hanno studiato le reazioni; di questi coacervati qualcuno possedeva all'interno qualcosa come un secondo coacervato. Erano sorti dei "vacuoli", che per giunta potevano essere tinti con gli stessi coloranti che vengono assorbiti nei vacuoli delle cellule vi-

venti. La somiglianza colpisce. La prima cellula vivente era dunque un coacervato complesso?

La questione non è così semplice. Naturalmente è seducente l'idea di "ritagliare" una porzione del limo primordiale dall'ambiente circostante, con un processo di condensazione e di delimitazione facilmente maneggiabile sperimentalmente. Ma non dovremmo farci a tale riguardo troppe illusioni, poiché ciò che si ottiene è del tutto diverso da una cellula.

Primo: abbiamo bisogno di molecole piuttosto grandi, in quantità notevole, ad esempio peptidi o addirittura proteine; e siamo ancora all'oscuro di come esse abbiano origine nella soluzione primordiale.

Secondo: un coacervato è formato da molte molecole *simili*, un coacervato complesso da molte molecole *simili di due sole specie*. I coacervati sono in un certo modo "casi statistici"; in essi, le molecole di una specie possono essere scambiate l'una con l'altra, a piacere. Ciò è in contrasto con i nostri concetti, secondo cui proprio le molecole delle proteine e degli acidi nucleinici spesso hanno carattere di individui: basti pensare agli enzimi.

Terzo: in base a tutto quanto i chimici e i fisicochimici sanno circa l'origine dei coacervati, è estremamente improbabile che in una gocciolina del genere, oltre ai componenti veri e propri del coacervato, possano ancora essere incluse quantità apprezzabili di sostanze a basso peso molecolare. Ciò invece avverrebbe se il coacervato fosse qualcosa di più di un ammasso di grandi molecole inattive, cioè una "porzione della poltiglia primitiva" coordinata e con un ricambio attivo (in altre parole, una zona del mare primordiale metabolicamente attiva). È dunque consigliabile non sopravvalutare il fenomeno dei coacervati, i quali è improbabile che abbiano generato gli organismi primordiali; per contro è possibilissimo che all'interno di una cellula già esistente possa nascere una specie di ripartizione, una

"compartimentazione", mediante la formazione di coacervati (*vedi* a p. 186).

7.05 Dal metabolismo alla riproduzione o viceversa?

Crescita e gene primordiale

Non sappiamo ancora come si sia pervenuti alla delimitazione dei primi modesti territori del metabolismo. A questo riguardo abbiamo la scelta fra diversi "modelli", ossia "meccanismi". Ma anche nel caso che avessimo una certezza, non saremmo autorizzati a chiamare queste goccioline (qualsiasi aspetto abbiano e comunque equipaggiate siano) viventi. Nella maggior parte dei casi esse sono state certamente instabili: formazioni caduche, che ben presto si dissolvono. Quelle più stabili (non possiamo chiamarle altrimenti che "sopravvissute") avevano certamente delle possibilità di perfezionarsi. Poiché i loro involucri avevano soltanto una permeabilità limitata, esse potevano condensare nel loro interno delle sostanze, che altrimenti si sarebbero semplicemente disperse nella poltiglia primordiale. L'aumento della concentrazione delle sostanze può significare, ma non necessariamente, un aumento degli scambi oppure anche la formazione di molecole più grandi (più lunghe). Soprattutto i diversi processi potevano essere meglio accoppiati, meglio coordinati, in definitiva "armonizzati". Ciò appare come uno sviluppo superiore, un'evoluzione, ed infatti i biochimici parlano di una "evoluzione chimica", a dispetto di molti biologi, i quali vorrebbero riservare tale denominazione agli organismi. Non vogliamo immischiarci in questa disputa; a noi basta vedere per quali vie le goccioline possano perfezionarsi, affermarsi e conservarsi attraverso la selezione.

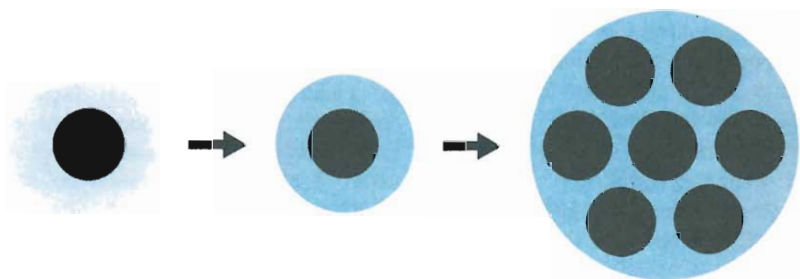
E tuttavia queste goccioline non sono ancora *viventi*, anche se hanno coordinato ed armonizzato con successo il loro ricambio.

Ci richiamiamo di nuovo ad uno dei titoli del primo capitolo: *La vita considerata come ricambio*. Questo titolo contiene esattamente, sebbene molto laconicamente, il problema in cui ci dibattiamo riguardo alle goccioline. Il ricambio è uno degli aspetti della vita, e molto importante, poiché senza il ricambio nessuna forma di vita è possibile (come abbiamo visto, questa proposizione non è reversibile). Ma la vita richiede di più. Anche nella loro forma più primitiva, le strutture viventi devono almeno crescere e riprodursi. Allora, a che punto siamo?

Se in una gocciolina si ammucchiano unicamente prodotti del ricambio, essa diventa più grande, ma ciò non è ancora una crescita. Di crescita si può soltanto parlare quando tutte le reazioni sono coordinate e armonizzate al punto che, oltre ai prodotti del ricambio, anche tutti i componenti fondamentali crescono, ad esempio anche gli eventuali primitivi enzimi. Poiché frattanto la "selezione chimica" lascia senza dubbio "sussistere" i sistemi meglio coordinati, non

è difficile immaginarsi un'evoluzione nella direzione della crescita. Ma che dire della riproduzione? Quanto più a lungo una gocciolina può crescere, tanto più grande è la probabilità che si spezzi, che cioè, per ragioni meccaniche, si divida in due o più frammenti. Questi hanno la stessa "attrezzatura" della gocciola originale, e così continuano da parte loro nel ricambio e nella crescita. Ora ciò avviene a spese dell'ambiente, della soluzione primordiale, che impoverisce di sostanze organiche; quindi le condizioni si fanno più "dure". Le gocce che aumentano con maggiore rapidità hanno più successo, nella concorrenza ad accaparrarsi le sostanze nutritive, di quelle più lente. Saranno privilegiate (e si "divideranno" più in fretta) quelle gocce che sono riuscite a sintetizzare da sé sole l'una o l'altra sostanza presente nella soluzione, quindi a diventare più indipendenti.

Però la frammentazione rimane ancora sempre abbandonata al caso, cioè a qualche disturbo di natura meccanica nell'ambiente



I coacervati si formano quando singole molecole, avviluppate in involucri d'acqua ben delimitati, si associano in tali condizioni per formare complessi maggiori (secondo Bungenberg de Jong).

ove si trova una goccia; ciò non è ancora una vera riproduzione nel senso di una "generazione" sistematica di discendenti identici. Oggi fa parte della riproduzione sistematica la identica replicazione dei geni e la loro trasmissione a individui generati. E poiché (oggi) soltanto gli acidi nucleinici agiscono da portatori d'informazioni, garantendo essi soli che tutte le sostanze necessarie alle reazioni siano presenti, anche nelle goccioline devono in un certo momento essere entrati in azione acidi nucleinici. Nella soluzione primordiale vi erano già dei nucleotidi, anche se non in eccesso. Da questi possono aver origine i primi geni primordiali. *Ma dove: nella soluzione o nelle goccioline?*

Niente caratterizza di più la nostra incertezza a questo riguardo del fatto che vi sono diverse ipotesi, le quali si contraddicono a vicenda. Un'ipotesi si richiama al fatto (invero incontestato) che i primissimi peptidi e le primissime proteine sono sorti senza l'intervento di acidi nucleinici. Il DNA (o l'RNA) si sarebbe aggiunto in seguito per liberare dal caso e regolare la sintesi dei peptidi e delle proteine. Il DNA sarebbe quindi una specie perfezionata di apparato regolatore, che si sarebbe formato *nella* gocciolina (*nella* cellula) a poco per volta. Un'altra ipotesi per contro pone il gene (o un gene) all'inizio della vita, non il "ricambio di una gocciolina". Un simile gene dovrebbe già a priori possedere tre doti:

1. capacità di raddoppiarsi;
2. capacità di mutare;
3. capacità eterocatalitiche.

Sappiamo già dal secondo capitolo che cosa sono raddoppiamento e mutazione. Ma che cos'è la "eterocatalisi"? (dal greco: *eteros* = di genere diverso; *katalyein* = slegare, sciogliere). Che cosa sia la catalisi, lo sappiamo già dagli enzimi: questi sono infatti catalizzatori. Si chiamano così sostanze chimiche le quali generano reazioni e successioni di reazioni chimiche determinandone il senso e la velocità, senza esse-

re modificate esse stesse chimicamente o meglio, senza modificazioni apparenti. Questo processo viene detto "catalisi". Per eterocatalisi si intende la capacità di influire sull'ambiente cataliticamente, in modo che esso fornisca tutto quanto è necessario per la conservazione del sistema (questa è la definizione di Horowitz del 1959). Da questa formulazione risulta almeno una cosa: un gene, una molecola di DNA *isolata*, vagante senza rapporto alcuno in un ambiente vuoto, è per noi poco interessante. È infatti completamente inefficiente. Tutt'al più può mutare, non però raddoppiare se stessa né provocare alcuna eterocatalisi. Nulla cioè può avvenire senza un ambiente circostante adatto. Forse le goccioline non sono necessarie, basta la soluzione primordiale?

Autoduplicazione nella provetta

Osserviamo anzitutto l'autoduplicazione, la quale si svolge nelle cellule viventi che si dividono. Per quanto appaia improbabile, è effettivamente possibile fare in modo che un gene si raddoppi fuori della cellula, in provetta. Il fatto sembra tanto inverosimile che è stato a lungo negato. Ma proprio un anno prima che venisse scritto questo capitolo, nel settembre 1965, apparve nei rapporti dell'Accademia Nazionale delle Scienze (statunitense) un articolo degno di ogni attenzione. Gli autori sono il prof. Spiegelman (Urbana, USA) e quattro suoi collaboratori. È intitolato: *Sintesi di un acido nucleinico infettivo, automoltiplicantesi, mediante un enzima purificato*. Con ciò è detto tutto, ma in modo così concentrato che occorrerà illustrarlo un po' più diffusamente per il lettore.

Per quanto riguarda l'acido nucleinico, si tratta di RNA, anzi dell'RNA di un batteriofago. Questo è il Q_{β} che può infettare un ceppo Hfr di *Escherichia coli* Q_{13} . (I particolari non sono importanti qui, tutt'al più

potremmo tornare indietro sfogliando, dato che nel secondo capitolo ci siamo occupati diffusamente dei batteriofagi e dei ceppi Hfr.) Questo RNA può essere isolato e purificato con opportuni procedimenti, tutt'altro che semplici. Abbiamo quindi in provetta un RNA puro, più precisamente un genoma fagico completo (quindi non soltanto singoli geni).

Se lo mettiamo insieme con cellule ospitanti, cioè con cellule di *E. coli*-Q₁₅-Hfr, queste vengono "infettate". Nella "semina" (vedi a p. 115) formano le "placche" già a noi note (anche questo non è molto semplice; fra l'altro, nella cellula da infettare, bisogna preventivamente ammorbidire la membrana della cellula, altrimenti l'RNA non potrebbe penetrarvi. Il fago intero ha degli enzimi, con i quali si apre un foro nella membrana: vedi a p. 111).

L'enzima purificato è una RNA-polimerasi RNA-dipendente. "Polimerasi" vuol dire che l'enzima costruisce, "polimerizza" delle lunghe catene di RNA, da singoli nucleotidi, quindi da adenosin-, guanodin-, citidin-, e uracil-fosfati. "RNA-dipendente" vuol dire che questa polimerasi è attiva soltanto in presenza di RNA, e che ha bisogno di questa matrice, dalla quale riceve per così dire lo stampo. Inoltre essa riconosce se l'RNA è quello giusto; se viene posta insieme ad RNA estraneo, rimane inerte. La polimerasi dunque deve derivare da cellule di *E. coli*, che sono state infettate dal fago Q₁₅ (una conseguenza di tale infezione è proprio l'induzione nella cellula della sintesi della polimerasi).

Se tutto concorda, abbiamo ancora bisogno di aggiungere soltanto le 4 basi adenosina, citidina, guanina e uracile come trifosfati, cioè ATP, CTP, GTP, UTP e, ancora una volta, ioni di magnesio; la polimerasi sintetizza tosto nuovi RNA secondo il campione rappresentato dall'RNA fagico. (Ciò del resto avviene molto celermente; già dopo 40 minuti la sintesi è completa.)

Poiché la polimerasi aumenta l'RNA fagico,

viene brevemente denominata "replicasi", che significa approssimativamente "enzima della moltiplicazione o della duplicazione". La difficoltà dell'esperimento sta nei processi di purificazione dell'enzima. Il lavoro più faticoso è quello di ottenere l'enzima privo di ribonucleasi, che ha la proprietà di accompagnarsi ad ogni estratto enzimico come impurità. Una minima traccia naturalmente disintegrerebbe subito gli stessi RNA fagici, o almeno l'RNA di nuova formazione.

La polimerasi provoca dunque in provetta un aumento di RNA fagico, e lo fa in modo tanto esatto che l'RNA di nuova formazione è infettivo come la matrice originaria estratta dalle cellule di *E. coli*, o dai batteriofagi. Ora certo bisogna far fronte all'obiezione secondo cui la nuova infezione potrebbe essere stata causata soltanto dal "vecchio" materiale della matrice.

La separazione dell'RNA vecchio dal nuovo, mediante centrifugazione (come descritto a p. 40 per il DNA "leggero" e "pesante") non è abbastanza rigorosa. Così fu eseguito il seguente controllo. Furono preparate in totale 16 provette, ognuna contenente tutto quanto è necessario per una sintesi di RNA completa; mancava soltanto l'RNA matrice del batteriofago. Questo fu posto solo nella provetta n. 0 (zero) e in quella n. 1. La provetta n. 0 fu controllata subito nella prova di infettività, allo scopo di avere un "valore zero", la provetta n. 1 fu controllata soltanto dopo 40 minuti, quindi dopo la sintesi di RNA nuovo. Poco prima si era prelevato dalla provetta n. 1 un piccolo campione (50 millimetri cubi su 250 o 300) e posto in quella n. 2. Nella provetta n. 2 si lasciò parimenti procedere la sintesi per 40 minuti, poi fu trasferito un piccolo campione dalla provetta n. 2 a quella n. 3, e successivamente fu controllato il resto della seconda provetta. Così si procedette da provetta a provetta, fino alla quindicesima. In quest'ultima, dopo il quindicesimo trasferimento, poteva trovarsi, a causa della continuata diluizione, al massimo un unico filamento

di RNA (calcolato teoricamente: 1/6 di filamento). Poiché nella prova delle placche il numero delle nuove infezioni rimaneva invariato, cioè alto, anche il nuovo RNA doveva essere infettivo tanto quanto la matrice originale. È dunque possibile ottenere in provetta, *senza cellule*, la moltiplicazione, la replicazione identica di un intero genoma fagico.

Il lavoro di Spiegelman e dei suoi collaboratori fu accolto dall'intero mondo scientifico specializzato con grandissimo favore. Già solo il successo conseguito nell'ottenere una sintesi enzimatica di un acido ribonucleico biologicamente attivo rappresenta una grande impresa. Almeno altrettanto importante però è il fatto che oramai il processo di replicazione stesso può essere studiato passo per passo, in modo molto più esatto di quanto fosse possibile sinora. In breve tempo verranno chiariti molti particolari, che finora non avevano potuto essere compresi.

Allora si può proprio avere una "moltiplicazione artificiale"?

La stampa quotidiana non ha mancato di impadronirsi di questa notizia sensazionale, di diffonderla, e di esagerarla nei titoli: "Moltiplicazione artificiale", "La vita ottenuta in provetta" e simili. Potremmo trascurare senz'altro tutto questo. Ma poiché l'annuncio della vita ottenuta in provetta viene proclamato da parecchi decenni ogni due o tre anni con bella regolarità, al pari delle apparizioni che ogni anno fa il mostro di Loch Ness, dobbiamo inserire un piccolo paragrafo, per esaminare che cosa vi possa essere di vero nella questione della vita ottenuta con mezzi artificiali.

Nell'esperimento di Spiegelman effettivamente tutto è naturale: gli acidi ribonucleici, la polimerasi e i 4 nucleotidi, non sono stati affatto sintetizzati in laboratorio, ma derivano tutti da cellule viventi, e dal

batteriofago Q_β. Soltanto le condizioni di esperimento sono "artificiali", cioè imitate. Perciò il "sistema della provetta" è anche molto facilmente alterabile: se le concentrazioni non sono esatte, se vi sono impurità, come ad esempio la ribonucleasi, esso non funziona più. È già un fatto straordinario che il sistema possa essere costruito fuori della cellula e che la replicazione dei geni possa procedere anche in vitro con minuziosa precisione. Ma il vero miracolo è che questo sistema labile, il quale deve essere assistito con tanta cura, funzioni anche nella cellula, anzi nella cellula funzioni addirittura *in modo molto più sicuro*, in presenza di migliaia di prodotti (e di sottoprodotti) del ricambio e di migliaia di enzimi (fra i quali anche la ribonucleasi!), di ribosomi, di m-RNA, di ioni di ogni genere, ecc., molti dei quali, isolatamente, farebbero crollare il sistema della provetta. Nella cellula, all'opposto, essi manifestamente non rappresentano un disturbo, come pure la replicazione dei geni non disturba gli altri processi nella cellula.

Tale fatto è sicuramente una questione di organizzazione. Ma qui "organizzazione" è molto di più che un po' di ordine nello spazio (compartimentazione, vedi a p. 186) e nel tempo. È anche di più dello svolgimento schematico di una tabella oraria concepita a breve termine: è una armonizzazione di tutte le parti e di tutti i processi, ed ha assunto una perfezione che attualmente supera la nostra forza immaginativa. Questa organizzazione è chiusa in se stessa, e tuttavia è costantemente in attivo contatto con l'ambiente: reagisce, trasforma, si adatta. Ed infine è il risultato di un processo di selezione e di evoluzione che ha avuto corso per oltre un miliardo di anni e che ha lasciato le sue tracce. È poco probabile che fra breve tempo possiamo avere un computer, il quale rifaccia tutto ciò. E se anche ci fosse, avremmo troppo pochi dati per alimentarlo, probabilmente nemmeno una centesima parte di quanti ne occorrono. Sol-

tanto con una alimentazione al cento per cento, esso potrebbe dirci come funziona realmente una cellula con una simile "esperienza" (possiamo dire come "vive"?), e come dovremmo fare per costruirla.

Ciò appare oscuro, anzi addirittura mitico. Per renderlo un po' più evidente e per applicarlo al problema della vita artificiale, diciamo: noi possiamo naturalmente in luogo dell'RNA dei fagi usare un genoma artificiale, un genoma secondo i nostri piani. In provetta l'esperimento fallirebbe. Il sistema è adatto solo all'RNA del Q_{β} e non ad altri. Anche se, invece dell'RNA del Q_{β} , prendiamo l'RNA del fago MS-2, che può ugualmente infettare l'*Escherichia coli* Q_{11} , la polimerasi rimane inattiva. La cellula vivente è certamente più "flessibile". Se le somministriamo RNA artificiale, o rifiuta di accettarlo (caso 1), oppure lo accoglie ma lo riconosce come estraneo, "inadatto" e lo demolisce subito con ribonucleasi (caso 2). Il caso 3 sarebbe: l'RNA estraneo è accolto e non riconosciuto come estraneo. In questo caso disturba l'armonia della cellula e, esattamente come se fosse attaccata da un fago litico, la cellula muore. Soltanto in un unico caso si potrebbe avere un risultato alquanto positivo, cioè quando il genoma estraneo differisce solo di poco da quello normale e potesse ancora essere accettato. Ciò procurerebbe la possibilità di chiarire sperimentalmente come il nuovo genoma sia sopportato, e quali siano le relazioni fra il genoma e gli altri componenti cellulari.

Quanto esigua sia la possibilità di creare la "vita artificiale" e le "cellule sintetiche", ognuno può valutarlo da sé; noi vogliamo concludere le nostre considerazioni circa la vita in provetta e ritornare alla domanda: che cosa c'è stato prima, il ricambio o il gene? Se già interi genomi possono moltiplicarsi in provetta, dovrebbe essere più che mai possibile con singoli geni. Anche nella nostra soluzione primordiale? La cosa non è ancora così certa. Gli esperimenti che ab-

biamo seguito poco fa si sono dimostrati molto sensibili a inquinamenti. Evidentemente la moltiplicazione dei geni avviene in modo molto più sicuro nelle cellule viventi che in provetta, la quale d'altronde assomiglia molto di più ad una cellula che alla soluzione primordiale, essendo in definitiva un ambiente sperimentale chiuso, non privo di confini come il mare primigenio. In questo, non soltanto i prodotti delle reazioni, ma anche i partecipanti alle reazioni stesse, come gli enzimi, la matrice, l'UTP, ecc., si disperderebbero subito.

Così è per la moltiplicazione e così è anche per la eterocatalisi, la terza proprietà del "gene primordiale": che cosa serve ad una macromolecola la eterocatalisi più completa, se i prodotti forniti dall'ambiente circostante su comando si disperdono subito nella soluzione originaria? Come possono essi mantenersi nell'immediata vicinanza del gene onnipotente, se il gene non crea il proprio ambiente e non pone ad esso una difesa contro il mondo circostante? Un gene, che vaghi da solo nella soluzione originaria, è effettivamente inefficace e senza importanza. Pertanto, i sostenitori dell'ipotesi basata sul gene si trovano di fronte alla stessa difficoltà in cui noi ci siamo imbattuti alcune pagine innanzi, e cioè quella relativa alla delimitazione di una "porzione" della soluzione mediante una membrana di lipoidi o per mezzo della formazione di coacervati.

Una terza ipotesi è la seguente: nella soluzione originaria si formano per polimerizzazione delle macromolecole di DNA. Molte di esse hanno sequenze di base "assurde", mentre alcune possono valere come geni primitivi (per ora occorre solo un'informazione ridotta). La vita sorgerebbe solo quando uno di questi geni fosse assunto da una gocciola abbastanza "adatta", con la quale potesse collaborare, come se si trattasse di un nucleo primitivo con un citoplasma primitivo. Entrambe potrebbero adattarsi a vicenda e formare un sistema coor-

dinato, armonico, con ricambio, crescita e proliferazione.

Quale delle tre ipotesi sia quella giusta, o se tutte e tre siano sbagliate, oppure se se ne possa trovare una quarta, oggi nessuno può dirlo. E perciò deve, per forza di cose, rimanere senza risposta anche il quesito se la riproduzione abbia preceduto o seguito il ricambio.

7.06 Ordine dal disordine

È improbabile che le macromolecole "giuste" s'incontrino

Tutte le idee circa il primo gene sono incerte e vaghe; la nebbia che lo ricopre è troppo spessa. Abbiamo trascurato le difficoltà più gravi di questo argomento. Poco fa abbiamo affermato: « Nella soluzione originaria si formano per polimerizzazione delle macromolecole di DNA. Molte di esse hanno sequenze di basi assurde, mentre alcune possono valere come geni primitivi ». Entrambe queste proposizioni sono all'apparenza così ovvie, che facilmente si passa oltre, senza altre preoccupazioni. In realtà esse minimizzano una amara realtà, che potrebbe essere tale da ridurre all'assurdo tutte le idee sull'origine della vita sulla Terra: come si era svolta la nostra escursione nel campo del calcolo combinatorio? Abbiamo appreso che di una proteina di 150 aminoacidi sono possibili 10^{130} versioni. Facciamo questa volta un conto in più grande stile. Ammesso che l'età della Terra sia di circa 3 miliardi d'anni, e che in ogni secondo sia comparsa una molecola di proteina (la quale poi si sia disciolta in un tempo corrispondente al suo semiperiodo), avrebbero dovuto apparire sulla Terra in totale soltanto 10^{60} differenti molecole proteiche. 10^{60} è la 10^{70} parte di 10^{130} . La probabilità che fra le 10^{60} molecole ci siano per caso quelle "giuste" è straordinariamente esigua. Ma c'è di peggio: questi miliardi e miliardi

di molecole proteiche formerebbero su tutta la Terra uno strato spesso un metro (in ogni centimetro cubo di questo strato si troverebbero $10^{19} = 10$ miliardi di miliardi di macromolecole). La probabilità poi che anche tra quelle eventualmente giuste si possano incontrare quelle vicendevolmente adatte è uguale a zero. Ora, come possono trovarsi insieme due molecole, una adatta all'altra, se una è in Australia e l'altra in Islanda? In base a tali cifre, non si può immaginare alcun meccanismo ragionevole di selezione. Ciò che vale per le proteine deve valere anche per gli acidi nucleinici; così il lettore giunge alla conclusione che le due proposizioni avanzate conducono ad una semplificazione irresponsabile: con la polimerizzazione casuale e con la selezione naturale non si può spiegare l'origine nemmeno dei geni più primitivi.

Una bilancia giocoliere

Dobbiamo ora rassegnarci ad interrompere le nostre ricerche e ad attribuire tutto ad un unico atto creativo? Questa è una questione di coscienza, di fede, di temperamento, non è una decisione di carattere scientifico. Lo scienziato che si occupa della natura va in cerca di rapporti causali, cerca la causa e l'effetto. E poiché non può sperimentare con il processo storico della selezione, si rivolgerà alla polimerizzazione, verso la quale orienterà le sue ricerche. Se non si ottengono risultati con la polimerizzazione casuale, ci sono forse dei dispositivi che limitino le possibilità casuali e facciano sì che le sequenze delle basi non sorgano a caso, cioè ognuna con la stessa probabilità, ma che certe sequenze siano favorite, e che quindi l'ordine nasca dal disordine? Questo appare ancora meno verosimile del procedimento con le 10^{130} molecole proteiche. Ma i matematici e i tecnici del calcolo ci hanno insegnato che purtuttavia ciò è possibile. Unitamente ai biologi e ai bio-

fisici, hanno escogitato un computer, cioè una macchina calcolatrice, che "crea ordine". Noi vogliamo tentare di seguire gli sviluppi del pensiero, senza dover studiare matematica o impiegare cervelli elettronici.

Anzitutto dobbiamo descrivere un modello meccanico, una bilancia abbastanza semplice (vedi figura a p. 303). Ha due piatti, ad altezza differente. Accanto al braccio della bilancia è situata un'apparecchiatura supplementare, che, di due scatole destinate a contenere ciascuna una scorta di palline, (scatola A e scatola B), quando ne apre una, chiude l'altra, in modo tale che, quando la bilancia è in equilibrio, è aperta la porta della scatola A, quando invece vi è uno squilibrio, è aperta la porta della scatola B. In entrambe le scatole, come si è detto, vi sono delle palline, palline A e palline B. La particolarità del dispositivo risiede nel fatto che le palline A sono più pesanti delle palline B. Per completare l'apparecchiatura abbiamo soltanto bisogno di applicare una specie di ponticello fra i due piatti della bilancia, il quale porta 5 palline in fila.

La bilancia funziona nel modo seguente: nella posizione indicata dalla figura, i piatti della bilancia sono in equilibrio, poiché su ognuno di essi si trova una pallina A. Quindi, per costruzione, la scatola A è aperta. Una pallina A rotola fuori, giunge sul piatto di destra e spinge la pallina A che vi si trova sul ponticello intermedio. Di conseguenza la pallina che si trova all'estrema sinistra del medesimo (in questo momento una pallina A) viene spinta sul piatto di sinistra, ove essa spinge fuori, a sua volta, una pallina A. Questa viene a posarsi a sinistra, in una scanalatura di scorrimento, e prolunga la serie delle palline A e B già allineatesi.

Finora abbiamo trattato soltanto delle palline A, ma ben presto le cose cambiano. Siccome al capo sinistro del ponticello intermedio è venuta a trovarsi una pallina B, quando una nuova pallina A cade sul piatto destro della bilancia, questa volta è sospin-

ta sul piatto di sinistra una pallina B. Quindi i piatti della bilancia non sono più in equilibrio, lo sportello della scatola A viene chiuso, entra nel sistema una pallina B.

L'intero sistema continuando a funzionare (se le scatole A e B sono sufficientemente rifornite), si formerà una lunga serie di palline A e B alternate apparentemente senza regola. La successione che ne deriva è trascritta nella tabella a p. 304; sembra di nessun interesse.

Ma se invece di una successione di palline immaginiamo di avere una sequenza di aminoacidi (o di nucleotidi) nel momento in cui vengono collegati per formare una macromolecola durante un processo di polimerizzazione (di proteine o di acidi nucleici), ritroviamo il nostro argomento, riconosciamo una relazione col problema del "gene primigenio" e soprattutto, riconsiderando attentamente questa sequenza, riscontriamo che non è totalmente disordinata. Dopo 127 elementi essa si ripete esattamente, e i matematici ci dimostrano che così deve essere: poiché ogni volta si trovano nel modello della bilancia 7 unità, cioè 2 sui piatti e 5 sul ponte intermedio, il "periodo massimale" è $2^7 - 1 = 127$. Paragonato al disordine totale nella polimerizzazione casuale, l'ordine che ci è dato dal computer stesso è considerevole. In realtà quest'ordine non è prodotto dall'apparecchio e neanche è dipendente dalla sequenza iniziale: è la *conseguenza della connessione logica*. Insomma, il computer, come tutti i computer, non fa che eseguire le seguenti operazioni:

1. legge (cioè accerta quale nuovo dato si aggiunga);
2. confronta (il dato che si è aggiunto a quelli già presenti);
3. aggiunge (un nuovo dato, secondo regole stabilite unicamente dai due dati precedenti);
4. consegna (un dato che è determinato secondo le stesse regole del punto 3);

5. ricomincia da capo.

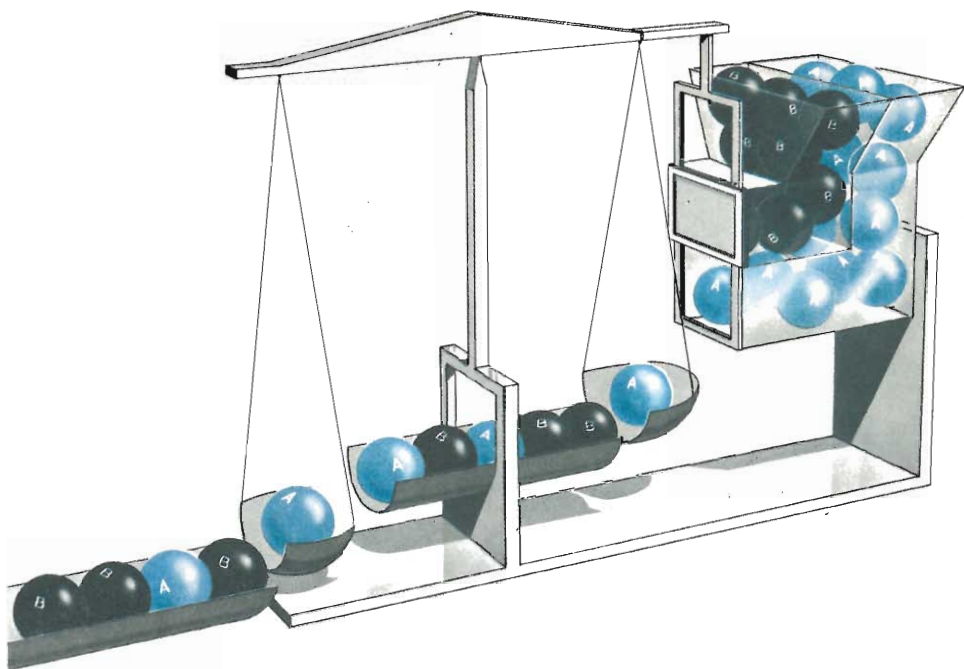
Il risultato di queste operazioni di calcolo è un ordine che dipende unicamente dalle caratteristiche dei nostri elementi A e B e dalla possibilità di confrontarli fra di loro, prendendo in base a ciò delle decisioni.

Le molecole sanno calcolare?

Questo titolo è la traduzione non del tutto felice della frase: *Can Molecules Compute?* che il prof. Pattee usa in una ricerca sull'origine delle sequenze macromolecolari. E infatti è naturalmente in sommo grado improbabile che nella soluzione primordiale con la sua ripartizione casuale ("statistica") delle molecole si trovi proprio un calcolatore elettronico che produca delle macromolecole di DNA o di proteine con una sequenza ordinata. E se effettivamente ce ne fosse uno, si dovrebbe dire: bene, un simile calcolatore è in se stesso un sistema molto ordinato; perciò non c'è da stupirsi se da parte sua produce ordine. Con ciò non si sarebbe ottenuto nulla per quanto riguarda la nostra domanda iniziale, poiché nessuno potrebbe spiegare donde venga questo calcolatore (se non è caduto dal cielo). Ci sono dunque delle macromolecole, le quali da sé possano eseguire le stesse operazioni dall'1 al 5, secondo il modulo fornito dalla bilancia? La cosa migliore a questo riguardo è di esaminare quelle macromolecole, che sappiamo si presentano come eliche (ad esempio l' α -helix delle proteine, o la doppia elica di DNA). Quando un modello del genere non sorge dapprima in forma distesa per poi "avvolgersi a spirale" successivamente, ma cresce fin da principio come elica, si ha come risultato la seguente interessante situazione:

supponiamo che, in analogia con il calcolatore a bilancia, la macromolecola consista soltanto di due specie di sottounità, A e B. L'elica deve avere 7 sottounità su una

spira. Già dopo la prima spira (nella figura a p. 305 siamo alla terza spira in formazione) viene definito il sito, una specie di nicchia, in cui deve essere inserita la nuova sottounità. Questo sito è delimitato da un lato dall'ultima sottounità (X_n) alla quale deve essere collegata la nuova sottounità, dall'altro lato dalla sottounità che sta "in basso", portante il numero X_{n-6} (ottenuto contando indietro di 6 sottounità). È assai probabile che queste due unità X_n e X_{n-6} abbiano in qualche maniera influenza nel determinare se debba essere A oppure B la prossima sottounità da incorporare, e, in certo modo, nel giudicare: A è adatto, B non è adatto. Formuliamo la regola seguente: se $X_n = X_{n-6}$, viene aggiunta A; se $X_n \neq X_{n-6}$ (disuguale) viene aggiunta B. Una simile regola di calcolo è senz'altro possibile e ragionevole. Per quanto riguarda le nostre considerazioni, essa offre il vantaggio di concordare perfettamente con la norma di funzionamento del nostro calcolatore a bilancia. Quindi anche il risultato è perfettamente lo stesso: la sequenza delle sottounità nella macromolecola corrisponde alla sequenza delle palline A e B. (Per ragioni di completezza aggiungiamo che qui, oltre al periodo lineare di 127 unità, c'è anche un periodo tridimensionale di $7 \times 127 = 889$ sottounità. Si potrebbero ancora a questo proposito aggiungere interessanti deduzioni.) Dunque le molecole possono effettivamente contare, calcolare. Quando le sottounità, per il numero e l'ordinamento dei loro singoli atomi, hanno strutture spaziali ben determinate e i loro legami sono situati in modo ben determinato (i chimici, un giorno, ci spiegheranno questo fatto in modo preciso), non soltanto crescono in macromolecole, ma contano anche, in sostanza creano ordine. La macromolecola così ordinata certamente non fa altro che rispecchiare quell'ordine che esiste già nelle unità minori a causa dei legami chimici (in ciò si manifesta nuovamente il fatto che proprio la biologia



Questa bilancia provoca una successione ordinata di palline pesanti (A) e leggere (B).

molecolare è atta a rendere comprensibili i processi biologici).

Ma noi possiamo ancora procedere per un piccolo tratto nel nostro cammino. Le capacità aritmetiche delle macromolecole hanno già interessato il lettore, che è anche d'accordo sul fatto che tale capacità può essere di grande importanza per il nostro problema "ordine dal disordine". Ma prima di accettare questo concetto, egli vorrebbe ancora sapere se ci sono dei fatti che dimostrino l'esistenza di simili sequenze ordinate nelle nostre macromolecole odierne. Nel virus del mosaico del tabacco (un virus vegetale) si conosce con precisione la sequenza degli aminoacidi della parte proteica. Se si calcolano secondo un metodo, che risparmiamo al lettore, certe "probabilità", risulta che la distribuzione degli aminoacidi qui non è casuale (almeno se la si legge cominciando da un lato; se si comincia dal-

l'altro lato, si ha una distribuzione completamente casuale). Ciò tuttavia significa poco per chi non ha pratica con i metodi della statistica matematica.

In compenso, si può rendere manifesto qualche cos'altro. Indichiamo dunque per iscritto un tratto della sequenza di A e B che ci è stata fornita dal modulo della bilancia e dalla macromolecola calcolatrice, ma in forma diversa, cioè in serie di sei e precisamente incominciamo con la sesto/ultima unità della quarta riga. Con questa disposizione si possono tracciare diversi triangoli, *comprendenti soltanto* delle unità A (vedi tabella a p. 306).

Ciò non avviene a caso: questi triangoli sono la conseguenza di quelle operazioni di calcolo che valgono per il modello considerato.

Ora prendiamo una sequenza parziale dalla proteina del virus del mosaico del tabacco,

1	B	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	29	
30	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	58
59	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A	A	87	
88	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	A	116	
117	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	145	
146	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	174	
175	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	203	
204	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	232	
233	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	.	.	261	
	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	.	.	254 255	

cioè dal numero 125 al numero 158, e la scriviamo parimenti in righe disposte l'una sotto l'altra, questa volta però in serie di quattro (poiché la spirale ha qui soltanto circa 3,7 residui di aminoacidi per ogni spirale). In modo completamente inatteso si può ricavare già su questo piccolo tratto un triangolo, che contiene esclusivamente dei resti di serina, e corrisponde perciò ai triangoli ricavati nel modulo fornito dal calcolatore (computer) (vedi tabella alla pagina 307).

Ciò è certamente troppo poco, perché noi possiamo dedurre con sicurezza che le sequenze degli aminoacidi, come pure le sequenze delle basi non si formano per caso, ma già a priori come sistemi ordinati. Ma qualche indicazione c'è. Non senza giustificazione possiamo affermare che molto probabilmente non tutte le 10^{130} varianti possibili nella sequenza degli aminoacidi sono state "provate" e selezionate, ma che anzi il numero delle macromolecole venute veramente alla luce è molto più piccolo. Non assistiamo a una polimerizzazione casuale, ma a

una polimerizzazione più o meno ordinata. In conclusione, può essere effettivamente derivato l'ordine dal disordine, senza che degli esseri viventi vi abbiano preso parte; a questo punto non dobbiamo dimenticare che tale ordine non sorge dal nulla, ma deve essere ricollegato con l'ordine che esiste all'interno delle singole molecole, cioè le sottounità, tanto aminoacidi quanto mononucleotidi.

7.07 Gli eobionti vengono abbozzati

Dalla fermentazione alla fotosintesi

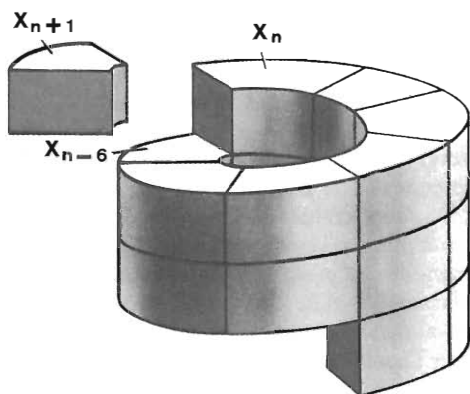
In questo modo sono state superate almeno le difficoltà più gravi che si opponevano ai nostri sforzi riguardo ai geni primitivi. Adesso possiamo rappresentarci in un certo qual modo i "geni primitivi" e le "goccioline metabolicamente attive". Al contrario, dobbiamo ammettere che l'origine delle prime cellule rimane ancora, come prima, avvolta nel buio. Ci restano solo possibilità concettuali e

possibilità sperimentali: è già molto, se confrontato con le confuse speculazioni alle quali ci si è abbandonati per secoli.

Per questi organismi vi è già anche pronta una denominazione: *eobionti* (dal greco *eos* = alba, quindi "molto presto"). Nella letteratura specializzata compaiono continuamente notizie secondo le quali negli strati rocciosi precambriani sarebbero stati scorti, con il microscopio elettronico, i resti degli organismi più primitivi. Sono generalmente particelle minime, a forma di sfera o di bastoncino, che ricordano da lontano impronte di batteri, oppure carbonizzazioni che si rintracciano in strati rocciosi più recenti. Per lo più, l'ipotesi che si debba trattare di resti di eobionti non ha retto alla critica degli ambienti scientifici. Troppo spesso siamo già stati ingannati da corpi prettamente inorganici, i quali somigliano in modo sbalorditivo a certe strutture cellulari. Alcuni mesi fa soltanto, è apparso in un'autorevole rivista scientifica degli Stati Uniti un articolo che illustrava tracce organiche tratte da uno strato dell'età di circa 3 miliardi d'anni. Dobbiamo anche qui attendere ciò che diranno gli ambienti scientifici, prima di attribuire una *forma* agli eobionti. (In caso di conferma, dovremmo correggere notevolmente il nostro schema dell'origine della vita attraverso il tempo.)

Meno incerto è ciò che si può supporre circa l'attività biochimica degli eobionti. Addirittura sicuro è che non erano autotrofi per il carbonio, e che non impiegavano il CO_2 come fonte di carbonio per le loro combinazioni organiche, ma che si alimentavano con composti del carbonio più o meno ridotti, quali erano appunto quelli presenti nella soluzione primordiale. Essi erano eterotrofi, e non potevano in nessun caso eseguire la fotosintesi.

In un certo aspetto ciò è assai rassicurante. Se all'origine della vita fosse esistita la fotosintesi, dovremmo fare molta fatica per spiegare come l'apparato della fotosintesi, molto complicato, con tutti i suoi partico-



L' "elica calcolatrice" conduce a sequenze regolate di sottounità.

lari, potesse essere stato creato da un giorno all'altro. Invece un ricambio eterotrofo viene naturale nelle condizioni della soluzione primordiale.

Ciò quadra bene con il fatto che la maggioranza degli attuali organismi vive in modo eterotrofo (la maggior parte dei batteri, i funghi, gli animali e l'uomo) e che persino le piante verdi attuali hanno soltanto una minima parte di cellule verdi. All'interno degli organi al di sopra del livello del suolo (piccioli, steli, tronchi) e in tutti gli organi sotterranei non c'è clorofilla, quindi né fotosintesi né autotrofia di carbonio, ma soltanto alimentazione con sostanze organiche (fattevi affluire).

Ancora un'altra indicazione merita attenzione. Risaliamo di nuovo a qualche cosa di conosciuto, questa volta al "ricambio di combustibile", respirazione e fermentazione (vedi alla p. 163 e segg.). Entrambe procedono parallele partendo dallo zucchero fino all'acido piruvico. Di qui si stacca la fermentazione (alcolica): dall'acido piruvico viene scisso CO_2 (decarbossilazione); l'acetaldeide che ne deriva diventa alcool etilico mediante aggiunta di idrogeno, che era stato asportato da un prodotto intermedio. Altrettanto correttamente si può dire:

l'acetaldeide serve da accettore d'idrogeno. Quindi la fermentazione si svolge senza ossigeno, cioè anaerobicamente, come deve essere nell'atmosfera primordiale.

Invece, nella respirazione, l'acido piruvico, sotto la continua disidratazione (perdita di idrogeno) e la decarbossilazione (perdita di CO_2), viene completamente scomposto; l'idrogeno liberato viene, nella respirazione finale, trasferito all'ossigeno atmosferico, con formazione di H_2O . Con differente formulazione si può dire: nella respirazione l'ossigeno, non l'acetaldeide, serve come elemento accettore dell'idrogeno. La respirazione è per forza aerobica.

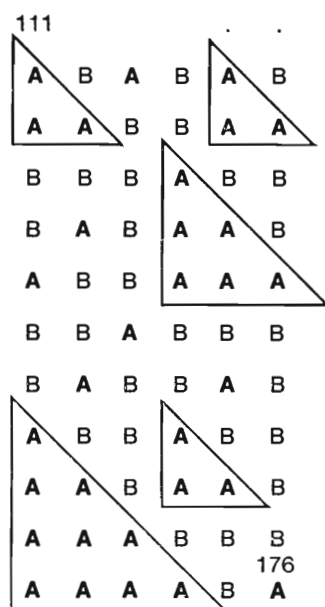
Così considerata, la fermentazione non si stacca affatto dalla respirazione, ma "è dentro alla respirazione", e può essere considerata la via più antica della demolizione dei carboidrati. (Non potrebbe farci meditare il fatto — già ricordato a p. 163 — della glicolisi anaerobica, che procede nel plasma fondamentale poco strutturato, e delle fasi successive collegate della respirazione, che invece procedono nei mitocondri altamente organizzati?)

Gli eobionti devono essersi preoccupati poco del fatto che l'ottenimento di ATP nella fermentazione fosse estremamente scarso, poiché potevano sempre ricevere rifornimento di sostanze fermentabili dalla soluzione primordiale. Soltanto quando, in seguito alla loro attività, tale soluzione divenne sempre più povera e l'atmosfera primeva sempre più ossidata (comparsa dell'ossigeno) essi non poterono più sperperare tanto materiale. Inventarono allora la respirazione completa, utilizzarono l'ossigeno atmosferico come accettore dell'idrogeno e ricavarono quantità di ATP molto maggiori.

Gli eobionti, organismi grezzi, non erano certo tanto efficienti e tenaci da accingersi a tale opera. Ma la selezione e l'evoluzione devono averli spinti in tale direzione.

E la fotosintesi? Noi l'abbiamo presentata sempre come immensamente importante, come base di tutta la vita di oggi, perciò dob-

biamo dedicarle qualche parola. Essa senza dubbio è subentrata gradualmente a tappe, e soltanto più tardi, cioè soltanto quando, nella trasformazione dall'atmosfera ridotta a quella ossidata, fece la sua comparsa il CO_2 (ovvero i carbonati solubili in acqua). Ma essa non venne scoperta di colpo dagli organismi, bensì in successione di tempi. Per la riduzione del CO_2 , per esempio in



idrati di carbonio ($-\text{CH}_2\text{O}$), abbiamo in primo luogo bisogno di idrogeno, poi di energia in forma di ATP. Quando fu scoperta la prima tappa, non esisteva ancora nella poltiglia primordiale una penuria di composti idrogenati; quindi l'idrogeno si poteva trovare facilmente. Per contro, l'ATP si otteneva male dalla demolizione dei carboidrati: era come il cane che si morde la coda. (La cellula avrebbe ottenuto dalla demolizione dei carboidrati dell'ATP, da im-

piegare per la riduzione di CO_2 , quindi proprio per la sintesi di quei carboidrati che deve demolire per ottenere l'ATP.) L'ATP

125			
ASP	ILEU	ASPN	LEU
ILEU	VAL	GLU	LEU
ILEU	ARG	GLY	THR
GLY	SER	TYR	ASPN
ARG	SER	SER	PHE
GLU	SER	SER	SER
GLY	LEU	VAL	TRY
THR	SER	GLY	PRO
	158		
ALA	THR		

doveva pertanto essere ottenuto in altro modo, e lo fu con l'aiuto di una "prima reazione della luce". La clorofilla era presente, e poteva assumere dalla luce energia, la quale fu impiegata per la formazione di ATP da ADP attraverso vie molto intricate, di cui non sono ancora noti tutti gli stadi.

Quando, nel corso di milioni e miliardi di anni, la soluzione primordiale diventò sempre più diluita fino a essere costituita soltanto

più da acqua e sali inorganici, non si poté naturalmente più fare assegnamento sull'idrogeno a buon mercato. Ma siccome l'idrogeno è indispensabile per la riduzione del CO_2 , dovette necessariamente essere prelevato dall'unico composto che ne conteneva e che era a disposizione, cioè dall'acqua; ma ciò naturalmente costa energia. Gli apparati della fotosintesi fecero nuovamente ricorso all'energia luminosa; in una "seconda reazione della luce" l'acqua fu scissa in H e OH. Per mezzo di ciò si ebbe nuovamente a disposizione l'idrogeno, e poiché la prima reazione della luce continuava a fornire ATP, la riduzione di CO_2 fu di nuovo assicurata (4 dei rimanenti "radicali" OH si riuniscono in $2 \times \text{H}_2\text{O}_2 =$ perossido d'idrogeno; questo si scompone in $2 \times \text{H}_2\text{O}$ e ossigeno molecolare O_2 , cioè "ossigeno fotosintetico").

Entrambe le reazioni luminose sono collegate in modo molto ingegnoso, ma noi dobbiamo rinunciare a descrivere questa connessione. Le abbiamo presentate in modo troppo grossolano e, nella semplificazione, troppo difettoso. Per trattare della fotosintesi completa in tutti i suoi particolari occorrerebbe qui troppo spazio e a un certo punto deve essere posto un confine tra un libro divulgativo e un trattato. E per gli eobionti possiamo rinunciare ai particolari, purché la direzione dell'evoluzione sia stata messa in evidenza.

Così abbiamo conosciuto cellule con la fermentazione, poi con la respirazione, poi con la reazione della luce n. 1, e infine con la reazione n. 2. Se questa successione corrisponda alla evoluzione, o se la reazione della luce n. 1 sia stata attuata ancora prima della respirazione, è tuttora controverso. Il fatto importante è che essa mette nuovamente in evidenza l'evoluzione, però ora si tratta già di una evoluzione di organismi, non di una "evoluzione" chimica delle molecole e macromolecole. Ed essa conduce dagli eobionti "fermentanti" alle cellule de-

gli attuali esseri viventi. A questo punto il capitolo è giunto propriamente al termine, poiché ciò che ora segue, cioè l'evoluzione degli esseri unicellulari originari fino a giungere alle piante, agli animali e all'uomo, è un processo da noi conosciuto nei suoi principi: si tratta di "mutazione" (cambiamento) e "selezione" (scelta, "selezione naturale" nel senso darwiniano). Per trattare dei relativi innumerevoli particolari non occorrerebbe soltanto un nuovo capitolo, ma un intero nuovo libro, con diversa problematica e diverso programma.

Diamo uno sguardo indietro. La biologia non può dimostrare che la vita è sorta sulla Terra senza l'intervento di un creatore. Ma essa ha accumulato tanto materiale (anche materiale sperimentale) che può affermare quanto segue: l'origine della vita sulla Terra può anche essere spiegata per via naturale, in base alle stesse leggi fisiche e chimiche che valgono nel mondo inanimato (lo stesso dicasi per l'evoluzione chimica e biologica). Come riepilogo di un capitolo è forse una conclusione un po' modesta, ma non dobbiamo sottovalutare la portata di una tale affermazione, poiché, come abbiamo guardato indietro, dal presente fino al limo originario, possiamo altrettanto bene guardare in avanti e chiederci: ed ora che cosa succederà? E, dato che il centro dell'interesse dell'intelletto umano è da sempre l'uomo stesso, la domanda suona così: che cosa farà la biologia per l'evoluzione dell'uomo?

7.08 L'evoluzione prosegue

*Pro e contro il progresso:
la selezione manipolata*

È incontestabile che la biologia abbia effetti benefici per la medicina o addirittura per la vita quotidiana. Le cure d'infezioni, la regolazione dei disturbi del ricambio, l'attenuazione dei danni delle tare ereditarie, il ritrovamento di nuove fonti di alimenta-

zione per l'umanità, la lotta antiparassitaria sono tutti campi in cui la moderna biologia ha mietuto successi. È possibile che qualche cosa di così soddisfacente avvenga in futuro anche sul terreno dell'evoluzione?

Il lettore ricorda, anche se un po' confusamente, alcuni titoli allarmanti e irritanti, che comparvero qualche tempo fa sui quotidiani: « Non comprendo come gli uomini debbano avere il diritto di avere dei figli »; oppure: « Soltanto in questo paese (s'intendeva l'Inghilterra) circa un milione di tonnellate di uomini sono superflui ». I titoli erano citazioni letterali di affermazioni che scienziati, medici e studiosi di biologia molecolare molto autorevoli, fra i quali numerosi premi Nobel, avevano pronunciato in un simposio tenutosi a Londra. Se è questo l'apporto della moderna biologia all'albero dell'evoluzione non è forse lecito nutrire le più grandi preoccupazioni?

Non vogliamo eludere simili domande. E così l'ultimo capitolo si deve concludere con un paragrafo sull'uomo del futuro, come è veduto da molti biologi. Qui non si tratta di profezie. E poiché non sono assolutamente possibili ricerche in senso scientifico, dovremo almeno considerare quale influsso possano avere le nuove conoscenze della biologia molecolare sul futuro sviluppo della razza umana.

Diamo ancora uno sguardo all'evoluzione, quale è stata fino a oggi. Essa sembra essersi svolta con una certa unità, anche se non obbligatoriamente in linea retta, poiché altrimenti dovremmo avere un'unica ininterrotta catena, senza diramazioni, dagli eobionti fino all'uomo (questo considerato come l'essere vivente più evoluto). Invece troviamo un tronco molto ramificato, con numerose specie di animali e di piante. E neanche completamente unitaria è stata l'evoluzione. Ci è già nota un'evoluzione chimica abiottica (che inoltre è soltanto la fase più recente di un'evoluzione planetaria o addirittura cosmica). Soltanto dopo di essa, potremmo dire come seconda tappa, viene

l'evoluzione organica o biologica, che conduce poi dagli eobionti al fungo e all'albero, alle meduse e ai vertebrati.

Molti scienziati ritengono che all'evoluzione biologica venga sovrapposta una "terza fase", o che addirittura questa la sostituisca. Essi la chiamano "evoluzione psicosociale", e intendono con ciò la società umana unitamente alle sue conseguenze: « Dalle macchine e dalle opere d'arte fino alle scienze e alle religioni » (Julian Huxley). Le società umane, i gruppi sociali sono dovuti a caratteristiche ("nuove acquisizioni") che sono proprie soltanto dell'uomo: intelletto ed anima, pensiero e linguaggio, tradizione ed educazione (i più positivi dicono "corteccia cerebrale"). Ma lasciamo da parte questi termini discutibili ed esaminiamo piuttosto gli effetti prodotti sull'evoluzione. Nell'evoluzione biologica, la selezione naturale, ovvero la "pressione" della selezione naturale, è stato l'elemento di spinta; nella fase psicosociale, si sovrappone la pressione psicosociale: ambizioni sociali, desideri e speranze, capacità intellettuali e tecniche, coscienza della tradizione e fede nel progresso, persino amore e odio, diventano tutti più forti della pressione della selezione naturale e determinano oramai l'evoluzione. Al tempo stesso si modifica anche lo scopo (detto con termine più modesto la direzione) dell'evoluzione. Se nella fase biologica si trattava praticamente in modo esclusivo della sopravvivenza, della conservazione dell'esistenza ("lotta per l'esistenza"), oggi l'uomo mira al proprio "compimento", all'"attuazione di se stesso". Per raggiungere tale scopo, egli impiega soprattutto le sue forze intellettuali e spirituali e le sue attitudini sociali. Ciò non significa altro che la selezione cieca viene sostituita da una selezione cosciente, anzi responsabile. Essa viene spinta e diretta dall'uomo.

Ora ogni evoluzione, sia chimica o biologica o sociale, è inesorabile e per giunta irreversibile, è evoluzione "totale". Ha possibilità di un futuro soltanto colui il quale

sa rispondere alle esigenze dell'evoluzione; quindi l'uomo deve cercare di mettere tutto al servizio dell'evoluzione: economia, scienza, arte, educazione, persino lo sport, i giochi e la ricreazione.

Alla biologia spetta a tale riguardo un compito particolarmente importante. Anzitutto, naturalmente, come ogni scienza e in definitiva come ogni attività spirituale, fisica e sociale, deve contribuire nel proprio campo al perfezionamento delle comunità, dei gruppi sociali, ad esempio con il rendere le condizioni di vita più sicure, con il miglioramento dell'alimentazione, con i perfezionamenti tecnici dell'agricoltura, con l'allevamento di alghe su vasta scala, con l'eliminazione di piante e di animali nocivi, e così via, ma anche, insieme con la medicina, all'eliminazione degli agenti patogeni, con il perfezionamento e la standardizzazione delle cure mediche e degli interventi chirurgici, con la preparazione in serie di pezzi di ricambio per l'uomo, e altre cose ancora. Ciò è per intanto soltanto il settore convenzionale della biologia, che è già stato coltivato con successo, con tanto successo che gli è stato attribuito il nome di "bionica" (*biological engineering*). Molto più importante è il contributo che l'uomo esige dalla biologia per l'evoluzione stessa. Nella misura in cui ci insegna che tutte le manifestazioni di vita sono causali e quindi si possono maneggiare e *dominare*, la biologia deve anche esercitare la sua nuova potenza. Essa pone il nuovo traguardo evolutivo, "l'uomo come perfetto essere sociale", e deve provvedere affinché tale traguardo sia raggiunto in via rettilinea e al più presto possibile (dunque non soltanto dopo decine di migliaia di generazioni). Proprio la biologia molecolare e la genetica molecolare sembrano essere chiamate ad accelerare l'evoluzione mediante il *genetic control* e il *genetic engineering*, cioè mediante il controllo e la tecnica genetici. Tali cose sono state dette nel simposio di Londra ricordato dianzi.

Queste formulazioni, di carattere generale

e che non coinvolgono una responsabilità, appaiono relativamente innocue ed hanno anche lati del tutto positivi. I particolari però sono inquietanti, angosciosi e irritanti. Alcuni di essi non possono essere da noi omessi, poiché ne abbiamo già fatto menzione sotto forma di citazioni. Prima però dobbiamo fare alcune considerazioni di natura obbiettiva, anche soltanto per mitigare il raccapriccio.

È evidente a tutti che non trattiamo più esclusivamente della buona, vecchia selezione biologica. L'uomo si è già intromesso, ha ostacolato sempre di più la vecchia selezione, ha distrutto l'equilibrio biologico di cui tanto si parla. L'aria delle nostre zone industriali, l'acqua inquinata e maleodorante dei nostri fiumi, la frutta spruzzata di anti-parassitari, le sostanze alimentari "opportunamente trattate" e molte altre cose ne sono testimonianze eloquenti, e rendono oggi manifesto a ciascuno ciò che in principio era noto soltanto agli esperti.

Tali interventi disturbatori non si sono avuti soltanto nel ventesimo secolo; essi risalgono a molto tempo addietro. Probabilmente hanno avuto inizio allorché l'uomo, dopo essere vissuto per centinaia di migliaia di anni come cacciatore e raccoglitore di bacche, radici e funghi, di frutti del mare e di selvaggina, alla fine passò a produrre egli stesso: dapprima cose destinate alla sua alimentazione, e poi beni di consumo. I disturbi hanno assunto l'entità fastidiosa e infine opprimente che oggi lamentiamo con l'inizio della produzione industriale.

Non vi è dubbio che l'uomo abbia cambiato il corso della selezione biologica, non perché voleva sostituirci qualche cosa di meglio — in tale epoca lontana egli non conosceva e non poteva conoscere nulla di meglio — ma unicamente perché si riprometteva un vantaggio. Si trattava dunque di puro egoismo. Ma di questo ci occuperemo più avanti.

Ne consegue anzitutto che, quando l'evoluzione biologica subisce effettivamente una

svolta, ciò non avviene certo su scala mondiale presso tutte le collettività contemporaneamente, ma essenzialmente nei paesi industrializzati. È chiaro proprio nell'epoca presente, in cui i "paesi in via di sviluppo" cercano di aprirsi l'accesso fra gli stati industriali. Non mancano i mezzi materiali, ma le premesse di carattere psicosociale; sono queste che rendono così difficile il processo di adattamento. Si può agevolmente dedurre che l'uomo "produttore", senza rendersene conto, ha modificato la selezione e quindi anche l'evoluzione: ha incominciato a evolversi in un'altra direzione. Ma in quale direzione? Si è trattato proprio di una guida della vita e dell'evoluzione cosciente e responsabile? L'origine della sopraddetta svolta (abbiamo parlato di puro egoismo) può giustamente farne dubitare. Ma è ancora troppo presto per decidere in proposito. Infine, che cosa sono duecento anni d'industria o diecimila anni di agricoltura, di fronte a un miliardo e mezzo di anni di evoluzione biologica? (Nel giorno di 24 ore di p. 289 si tratta di frazioni di secondo in confronto a 12 ore). Se dopo un tratto di via rettilinea si ha una piccola curva, chi potrebbe dire dopo pochi metri dove essa conduca? La terza tappa dell'evoluzione che incomincia con questa svolta potrebbe dunque essere l'evoluzione psicosociale responsabile. Chiamiamola l'**ipotesi I**, "**l'ipotesi di Londra**".

Ma potrebbe essere anche molto differente. E cioè può darsi che l'uomo, ovvero il gruppo sociale, annulli semplicemente il processo di selezione naturale che si è avuto fino ad oggi, a poco a poco, ma in modo sistematico, addirittura secondo un piano. Egli non ha un nuovo traguardo evolutivo; l'unica cosa nuova che introduce è un ambiente progressivamente artificiale, con l'aiuto del quale elimina gradatamente ma completamente la selezione naturale. Egli certamente non si accorge che nello stesso tempo ha pure mutato il senso dell'evoluzione, e che questa nuova (terza) evoluzione è tutt'altro che

cosciente e responsabile (come nell'ipotesi I), ma inconsapevole e non voluta. Questa sarebbe l'ipotesi II, che appare press'a poco innocua come l'ipotesi I; ma anch'essa cela particolari non meno allarmanti. È ora tempo di considerare le peculiarità di entrambe le ipotesi.

7.09 Ipotesi I: il senso di responsabilità

Il governo stabilisce chi potrà avere figli

Di fronte all'incremento delle conoscenze scientifiche e delle capacità tecniche, sta invece un progresso molto scarso nel campo sociale e culturale. Se limitiamo il concetto di "sociale" non all'assistenza sociale, allo stato del benessere e alle conquiste sociali, ma facciamo sì che abbracci gli aspetti psichici, etici e culturali di tutti i gruppi sociali, dalla famiglia fino alle Nazioni Unite, vediamo che quanto è stato raggiunto finora è veramente deprimente. Grandi imperi sono caduti, intere civiltà sono state distrutte, vaste zone sono state devastate, popolazioni sono state sterminate; lotte, sovvertimenti, guerre, bisogno e miseria sono all'ordine del giorno. Tutto questo, e ancora di più, è stato capace di fare l'uomo, il quale si prefiggeva di dirigere l'evoluzione con consapevolezza e senso di responsabilità. Che sia soltanto l'espressione di un abbassamento della qualità, un peggioramento, addirittura una degenerazione? Molti biologi sono di questo avviso. Dice sir Julian Huxley, già presidente dell'UNESCO: «È chiaro che in generale il livello qualitativo della popolazione mondiale non è molto alto, incomincia ad abbassarsi e deve e può essere migliorato». Se miriamo a un miglioramento, abbiamo bisogno al più presto dell' "uomo perfetto nell'aspetto sociale e culturale". Ma quali caratteristiche deve possedere questo essere umano, come può ottenerle?

È chiaro a priori che gli studiosi di gene-

tica molecolare possono bensì definire l'uomo geneticamente con una doppia elica di DNA con 5 miliardi di coppie di nucleotidi, ma sanno pure molto bene di non conoscere "geni sociali" e di non poterli modificare e migliorare con un *intervento diretto*, né chimicamente né fisicamente. Pertanto non rimane che da raccomandare l'applicazione dei ben noti e anche abbastanza calunniati metodi dell'eugenetica. Il loro scopo è il miglioramento della sostanza ereditaria mediante "allevamento", per dirla chiaramente. Ma quale è la meta da raggiungere con tale allevamento, e come si può raggiungerla? Se vogliamo allevare l'uomo di alto livello culturale, l' "uomo socialmente perfetto", dobbiamo trovare gli esseri umani di cui si desidera la riproduzione (cioè la cui riproduzione deve essere consentita). Per questo dobbiamo disporre di un test per le qualità sociali e culturali.

Il quoziente d'intelligenza

Quando la discussione è giunta a questo punto, entra inevitabilmente in campo il "quoziente d'intelligenza" (Q.I.). Il Q.I. è un numero determinato mediante questionari molto raffinati e test psicologici, e questo numero vale come misura per l' "intelligenza". Il valore medio per una data popolazione è posto uguale a cento. Se poi si considerano i quozienti d'intelligenza di singoli gruppi sociali nell'ambito di questa popolazione, non si può disconoscere che il Q.I. è tanto più alto, quanto più alto è lo strato sociale da cui esso è stato tratto. I valori più alti (oltre 150) si trovano presso gli scienziati, gli uomini di stato, i capi di organismi economici ed anche presso gli artisti. I valori più bassi si trovano negli strati sociali più bassi, fra gli asociali e i criminali. Appare ovvio che bisogna allevare gli alti Q.I.

Nessuno vorrà presumere di definire il Q.I. come l'unico test dei "geni sociali"; esso

in ogni caso può essere rappresentativo di molti altri test che ancora devono essere escogitati. Pure, esso non è immune dalle manchevolezze di ogni test e di ogni procedimento relativo alla loro applicazione. Così, ad esempio, si dovrebbe tener presente che intelligenza e labilità psichica non si escludono affatto. Quale utilità si avrebbe ad allevare degli intelligenti psicopatici, dei sovvertitori con alto Q.I.? Ogni errore nella scelta dei test avrebbe fatali ripercussioni. Tanto (o meglio così poco) possiamo attenderci dai test.

La meta che si propone l'allevamento può essere raggiunta senza costrizione soltanto se gli esseri umani vengono educati ad essere così illuminati e ad avere un tale senso di autodisciplina da *scegliere volontariamente* nel matrimonio un compagno che garantisca un aumento del Q.I. della discendenza. Sarebbe questo un cammino molto lungo, attraverso centinaia e migliaia di generazioni, forse troppo lungo, poiché probabilmente l'umanità nel frattempo si sarebbe da se stessa sterminata. C'è anche da dubitare che si possa raggiungere mediante degli appelli un cambiamento veramente radicale del comportamento finora abituale. Infine, proprio gli strati della popolazione aventi il più basso Q.I. sarebbero quelli meno accessibili all'illuminazione e alla educazione; si moltiplicherebbero senza ostacoli, mentre fra gli intelligenti il numero dei figli si abbasserebbe (come del resto già da lungo tempo è realmente avvenuto).

Qualsiasi forma di costrizione, sia blanda sia forte, viene rifiutata dalla popolazione, che cerca di sottrarvisi. Poiché dunque, per quanto riguarda l'allevamento avente per meta il Q.I., non si può fare a meno della costrizione, l'umanità, così affermano i sostenitori di questa tesi, dovrebbe essere obbligata in modo radicale, nel suo stesso e più vivo interesse, a svilupparsi (il più rapidamente possibile) avendo di mira una perfezione sociale e culturale. Il mezzo più radicale che è stato menzionato nella riu-

nione di Londra è il seguente: il governo (!) fa aggiungere ai nostri generi alimentari delle sostanze chimiche opportune anticoncezionali, di guisa che in generale ogni concepimento è impedito. Inoltre il governo tiene a disposizione un'altra sostanza che può ripristinare la capacità di concepire. Però questa sostanza anti-anticoncezionale deve essere distribuita soltanto a coppie accuratamente scelte. Questo mezzo non deve essere definito bizzarro, poiché, considerando le cose dal punto di vista dell'etica umana, « non si vede come gli uomini debbano avere il diritto di avere figli ». Avere figli, bisogna metterlo in chiaro (sempre secondo l'opinione che andiamo illustrando), non è affatto soltanto una faccenda di ordine privato.

Certamente, con la "patente per i figli" e l'antipillola, il numero delle generazioni che sono necessarie per l'aumento del quoziente di intelligenza da 100 a 110 o da 160 a 200 viene ad essere sostanzialmente diminuito. Forse ci arriveremmo in 100 anni. Ma programmi del genere hanno qualche probabilità di venire attuati?

Essi presuppongono una sorveglianza di portata mondiale e senza manchevolezze: questo rende il progetto già a priori disperato (a prescindere dagli altri aspetti spaventosi!). C'è sempre stato in ogni paese un certo numero di persone (per lo più con basso Q.I.), che riescono a sottrarsi a qualsiasi controllo, spesso con molta astuzia. Non potrebbe succedere che proprio queste si riproducano intensamente? Vi è un'altra considerazione: poiché la terza fase dell'evoluzione si limita soprattutto ai paesi industrializzati e tecnicizzati, non c'è da aspettarsi che gli altri nel frattempo sentano bisogno di sottoporsi a limitazioni, che appaiono loro superflue. Fu avanzata l'opinione che almeno un paese debba cominciare con il controllo delle nascite, continuando poi ad applicarlo in grande misura. Se quindi dopo circa 25 o 30 anni, ad esempio, tutti i premi Nobel toccassero

a scienziati di questo paese, gli altri paesi si affrettarebbero ad adottare il nuovo sistema. Il lettore pensa che le potenze commerciali e militari non si lascino impressionare molto da questo, e bisogna dargli ragione. Un effettivo controllo delle nascite sulla base della pillola anticoncezionale sarebbe per intanto completamente illusorio. Finora abbiamo parlato soltanto di una sorveglianza, ossia del mantenimento di una profilassi generale contro i concepimenti. Per quanto riguarda la seconda parte del programma, la "patente per i figli", le cose si fanno ancora più difficili. Chi rilascia tale licenza? Il governo del paese o un'autorità mondiale? In base a quali criteri vengono scelti i privilegiati? Secondo quozienti d'intelligenza regionali o secondo uno "standard internazionale"? Tanto una cosa quanto l'altra sarebbe discutibile. I quozienti d'intelligenza regionali porterebbero alla formazione di stati o gruppi di prima e di seconda qualità. Con uno standard internazionale intere popolazioni potrebbero venire eliminate freddamente, perché non potrebbero dimostrare di avere individui con un quoziente sufficientemente elevato (e ciò in un'epoca in cui ci si sforza di preservare dall'estinzione le primitive popolazioni australiane, che sono allo stadio dell'età della pietra).

Naturalmente la commissione incaricata di decidere in merito alle patenti per i figli verrebbe controllata dai parlamentari. Ma anche nelle migliori democrazie i governi e i parlamenti possono difficilmente difendersi dalla pressione dei gruppi d'interesse, per non parlare delle democrazie "guidate" e delle dittature.

Ora, si tratta in definitiva di questioni di organizzazione, che potrebbero essere risolte, se — e solo se — fosse indispensabile. Un bel giorno potrebbero presentarsi delle situazioni in cui tutti gli stati verrebbero effettivamente costretti a partecipare ad un piano comune.

Un peso maggiore potrebbe avere un'altra obiezione: il desiderio della soddisfazione

sessuale e il desiderio di avere un figlio sono due impulsi differenti, che possono, come indicano le proposte avanzate, essere separati, ammettendo l'uno e rifiutando l'altro. Ma entrambi sono legittimi, poiché si tratta di desideri "biologicamente condizionati". Nella donna, il desiderio di un figlio spesso prevale. Non si tratta del risultato di un'educazione "sbagliata"; non è un desiderio risvegliato perché si danno alle bambine delle bambole con cui giocare: al contrario, l'impulso ad avere figli fa sì che la bambina chieda bambole per i suoi giochi. Come molti fra i nostri comportamenti, anche questo "stimolo" è condizionato geneticamente, e fino ad oggi non abbiamo ancora avuto alcun mezzo (ma anche alcuna intenzione) di distruggere i suoi fondamenti genetici. Esso sarà sempre attivo, ma in futuro, nella nuova popolazione del mondo, dovrebbe rimanere insoddisfatto per il maggior numero delle donne. Come si concilia questo con i pretesi fini della società moderna, e cioè soddisfazione e senso di responsabilità? (Probabilmente ci sarebbe una rivolta delle donne; in ogni caso quelle abbienti potrebbero procurarsi dei figli al mercato nero, figli di quegli asociali che potrebbero essersi sottratti al controllo dello stato.)

AID - la fecondazione artificiale

Non sarebbe onesto far apparire assurdi piani per il miglioramento della qualità dell'uomo, soltanto perché ci sono scomodi o perché ci appaiono ridicoli. Non sono certo stati escogitati per ragioni superficiali, ma per serie preoccupazioni e profondo senso di responsabilità sull'avvenire dell'uomo. Forse sono stati formulati in modo così frivolo soltanto allo scopo di scuotere gli ambienti responsabili dalla loro indifferenza? (Dobbiamo citare un patetico appello che è stato udito nel simposio di Londra: «Mi sentirei molto più sereno, se potessi essere

sicuro che i nostri governanti fossero orientati, almeno in parte, sui problemi della biologia». Questo desiderio è particolarmente adatto a contrassegnare la situazione: infatti lentamente si fa strada la convinzione che i giuristi e gli economisti, pur essendo categorie sempre indispensabili, non bastano assolutamente più per reggere uno stato moderno. Senza conoscenze scientifiche sui fatti naturali e in particolare senza conoscenze di biologia, si perviene a decisioni sbagliate sempre più grottesche, come spesso si è dimostrato vero negli ultimi decenni.)

Se siamo persuasi che il sistema della "patente per i figli" sia scaturito da serie preoccupazioni, ci sarà più facile esaminare programmi anche più coerenti e più lungimiranti negli scopi che si prefiggono. Essi devono procurare un miglioramento in modo più celere e più sicuro. Intendiamo riferirci all'AID. L'abbreviazione, che non senza intenzione è uguale alla parola inglese che significa "aiuto", sta per "Artificial Insemination with semen derived from a Donor", fecondazione artificiale mediante sperma fornito da un donatore.

Sulla fecondazione artificiale si è molto discusso, soprattutto sui problemi morali, giuridici e igienici che essa presenta. Non spetta a noi prendere partito in questa disputa. A noi interessa principalmente il lato biologico. Il sistema AID si fonda sul fatto che si può conservare lo sperma umano per lungo tempo. Esso deve senza indugio essere congelato in azoto liquido; in caso di bisogno si scongela e si mette a contatto con un uovo maturo nell'utero, in guisa che gli spermatozoi possano fecondarlo. Questo procedimento è già noto da tempo, e viene applicato, ad esempio quando per determinati motivi una fecondazione naturale è impossibile o non è desiderata. In questi casi il nome e l'identità del donatore vengono tenuti strettamente segreti.

È rimasto riservato ai biologi l'argomento della fecondazione orientata per l'"alleva-

mento". Per i sostenitori della terza evoluzione, l'idea è certamente affascinante. Un centimetro cubo di sperma umano contiene milioni e milioni di spermatozoi; con questa quantità si potrebbero ottenere centinaia, anzi migliaia di fecondazioni artificiali. A questo scopo occorrerebbe soltanto qualche dozzina di uomini di grande valore (cioè con un alto Q.I. culturale e sociale). Che cosa avverrebbe se, con misure legislative e, se necessario, con sostanze chimiche si potesse ostacolare ogni inseminazione naturale e consentire soltanto la fecondazione artificiale? Lo sperma dei pochi uomini particolarmente dotati basterebbe per rifornire un'intera generazione di un popolo di genomi paterni ad alto livello d'intelligenza. In tal caso, soltanto nel nostro paese, circa un milione di tonnellate di maschi sarebbe superfluo (s'intende, soltanto sotto l'aspetto genetico, poiché né il ministro dell'economia né quello della difesa sarebbero d'accordo su una così drastica decimazione del sesso maschile).

Tuttavia in pratica il programma si svolgerebbe in modo meno energico. Si è infatti soprasseduto a prescrivere quale donatore si debba eleggere, cioè quale specie di spermatozoi, e si lascia la scelta ai genitori. Ciò nonostante il sistema AID rimane un po' macabro, soprattutto se si pensa che le provviste nelle banche dello sperma conterrebbero del seme di donatori nel frattempo defunti. Tali scrupoli non potrebbero essere eliminati, qualificandoli semplicemente come meschini.

L'uomo generato in provetta

Chi ha superato i sopradetti scrupoli non potrà non considerare giustificato un altro metodo, in cui l'allevamento è operato in modo ancora più coerente. Con il sistema AID viene manipolato soltanto lo sperma, mentre la fecondazione avviene entro l'utero, ed anche lo sviluppo del figlio fino alla

nascita avviene nell'ambiente intrauterino. Recentemente si è tentato di fare a meno anche dell'utero, e quindi di imitare le condizioni proprie di tale ambiente in modo così completo che la fecondazione e lo sviluppo procedano in vitro, cioè in provetta. La stampa ha riferito i primi successi che sono stati raggiunti da uno scienziato italiano. Ci sarà dato finalmente di vedere l'uomo "generato in provetta"?

Sì e no. "Artificiali", per quanto riguarda questa creatura umana, sono soltanto:

a) il modo con cui le cellule seminali maschili e le cellule uovo vengono portate a contatto;

b) l'ambiente, in cui la creatura è destinata a svilupparsi.

Ma gli spermatozoi e le cellule uovo sono prodotti completamente naturali di creature umane viventi, i genomi e gli altri componenti delle cellule sono intatti, e non sono affatto il prodotto di una sintesi chimica. Quindi non si può parlare di "essere umano sintetico".

Consideriamo ancora, per concludere, i nostri tre sistemi: "polvere anticoncezionale e patente per i figli", "AID", "fecondazione e sviluppo extrauterini". In questa successione si scorgono i mezzi sempre più adatti per raggiungere un miglioramento qualitativo in modo rapido e sicuro. La successione però rispecchia nel medesimo tempo anche una progressiva spersonalizzazione. Con il primo sistema entrambi i genitori valgono ancora come individui, come personalità. Con l'AID vi è ancora la madre, mentre il donatore interessa soltanto più per il suo quoziente d'intelligenza, per il resto è un anonimo fornitore di sperma. Nel sistema della provetta infine anche la donna, la madre, non ha più importanza come personalità: le si chiedono soltanto più cellule uovo fecondabili, con un genoma che garantisca un alto quoziente d'intelligenza. In ogni modo essa ha ancora importanza come assistente del bambino nato dalla provetta. Saranno soddisfatte le madri?

Il lettore non è certo uno schizzinoso, ed è dell'avviso di lasciare che ciascuno sia contento a modo suo, però è ancora in dubbio, se per tale scopo, così incerto, debba essere ammessa tanta costrizione e tanta spersonalizzazione. È veramente utile che tali indagini vengano continuate? Egli non chiede che siano vietate, ma pensa che il personale ed i mezzi finanziari necessari potrebbero essere meglio impiegati altrove.

Si tratta certo di una questione che gli uomini si sono sempre posti e alla quale hanno dato diversa risposta, secondo il punto di vista religioso, etico o pratico di chi era chiamato a rispondere. In questa discussione lo scienziato potrebbe affermare che lo sviluppo dell'uomo da raccoglitore a produttore, lo sviluppo dell'orda primitiva in moderno stato industriale, lo sviluppo della scienza da Aristotele fino ad Einstein, è più di una semplice liberalizzazione, di una complicazione e di un miglioramento: è una evoluzione e quindi è irreversibile (è indifferente se si tratti "ancora" di evoluzione biologica o se si sia "già" in presenza di evoluzione psicosociale). Non possiamo vietare l'evoluzione, di cui siamo noi stessi partecipi. (Nel medioevo si era addirittura vietato ai medici di sezionare i cadaveri, benché essi intendessero con ciò migliorare le loro conoscenze anatomiche, ma tale divieto non fu seguito). Se gettiamo uno sguardo indietro sulla terza evoluzione, come deve apparire in base all'ipotesi I, riscontriamo con stupore che, proprio come evoluzione coscientemente orientata, deve essere attuata con i metodi della genetica classica, ossia con le regole di Mendel. Si può definirla biotecnica; la genetica molecolare e la biologia molecolare non vi assumono ancora affatto la grande importanza che si è attribuita ad esse. Non si tratta di un caso. La spiegazione è già stata da noi anticipata allorché abbiamo parlato dell'esperienza di Spiegelman ("riproduzione in provetta"): per molto tempo non saremo ancora in grado di creare dei genomi facili

artificiali, i quali possano adattarsi e siano tollerati. Per i genomi umani che sono sproporzionatamente più grandi e inoltre devono essere arricchiti con "geni sociali", il problema si presenta con difficoltà ben maggiori. Riconosciamo che la biologia moderna ha contribuito poco ad un'evoluzione cosciente e responsabile (nel senso dell'ipotesi I), e che neppure potrà dare un contributo tanto presto. Avviene lo stesso per l'ipotesi II?

7.10 Ipotesi II: la selezione è soppressa

L'ambiente artificiale

Abbiamo dianzi osservato che è ancora troppo presto per accertare in quale direzione conduca la "svolta" che molti credono di scorgere nel processo evolutivo. Non si potrebbe ancora stabilire se tale processo continuerà come evoluzione psicosociale. Per lo meno apparirebbe altrettanto verosimile che l'uomo abbia semplicemente soppresso l'evoluzione naturale, o che sia in procinto di farlo sistematicamente, ostacolando o addirittura impedendola. Esaminiamo ora come si presentano i particolari di questa ipotesi (pure apparentemente inoffensiva).

Non si può disconoscere che l'uomo ha cominciato molto presto a creare condizioni ambientali artificiali da lui controllate. Lo ha fatto da quando si è accinto a produrre generi alimentari, come coltivatore e come pastore. Il suo atteggiamento, completamente giustificato nella sua ingenuità, era: ciò che mi è utile è buono, ciò che mi danneggia è cattivo. Buoni, sono le piante utili e gli animali domestici. Cattivi, sono i loro concorrenti e i loro nemici, la gramigna, gli animali che divorano le piante utili, gli insetti, eccetera. Essi quindi devono essere tenuti lontani e possibilmente sterminati. Le piante e gli animali buoni devono non sol-

tanto venire protetti, ma anche migliorati, naturalmente non migliorati nel senso che siano veramente migliori, ma in modo che l'uomo ne tragga maggiori vantaggi (maggiore guadagno).

Questo scopo venne perseguito in modo coerente e si può dire che sia quasi raggiunto. Gli aumenti di produttività sono senza precedenti, e l'uniformità dei prodotti sembra quasi innaturale. (Presto si allevano maiali senza le orecchie, che non si possono utilizzare e che perciò sono superflue. In loro vece avranno più costole.) Senza la genetica, ma soprattutto senza la chimica, non si sarebbe andati così lontano. Senza fecondazione artificiale, senza vitamine, ormoni e sostanze nutrienti, senza gl'innumerevoli antiparassitari e mezzi per lo sterminio delle erbacce, senza concimi artificiali, il tutto applicato secondo piani e a tempo di record, la nostra agricoltura sarebbe rimasta molto, molto indietro e oggi non sarebbe in grado di mantenere la sua produttività e di migliorarsi.

In questo modo però l'uomo ha creato per gli esseri viventi a lui utili un ambiente veramente artificiale (qualcuno, visitando una volta un allevamento di polli, disse che si sarebbe dovuto piuttosto chiamare una "fabbrica di uova"); in tale ambiente i fattori naturali della selezione sono completamente soppressi. Se qualcuno opera la selezione, deve essere soltanto l'uomo, secondo i suoi piani precisi per assicurare e incrementare i proventi. Nella natura libera (dove ancora si può trovare) nemmeno una delle piante utili, nemmeno uno degli animali domestici potrebbe sopravvivere più di un tempo molto breve: le condizioni ambientali naturali li eliminerebbero senza indugio (eliminare, in latino, vuol dire propriamente: "spingere fuori di casa"). Quindi le condizioni artificiali di ambiente devono essere costantemente mantenute e migliorate.

Tutto ciò però ha avuto conseguenze che, considerate a tutta prima come fenomeni accessori senza importanza, procurano og-

gi gravi preoccupazioni. Il lettore ha sentito parlare di immensi territori nel Middle West degli Stati Uniti, i quali, a causa delle monoculture, estese per chilometri e chilometri, di frumento o granturco, si sono completamente inariditi. Dopo il raccolto, la terra rimaneva privata del suo strato vegetale protettivo, gli uragani disperdevano poi lo strato di terra fertile e non rimaneva che steppa e deserto, senza alcuna utilità per l'uomo. Certo, s'incomincia oggi faticosamente e con spese immense a ricostituire i terreni a coltura di un tempo, con alberi e siepi, che rappresentano una protezione contro i venti ed offrono agli uccelli (come distruttori di insetti) la possibilità di nidificare, con laghi e stagni, i quali provvedono all'umidità dell'aria; ma quanto tempo dovrà ancora passare prima che sia stato ricostituito ciò che l'uomo, nella sua miopia, ha distrutto? Il lettore conosce forse il libro *Primavera muta*, nel quale Rachel Carson descrive le conseguenze insospettite dei mezzi antiparassitari. Si potrebbero citare molti altri esempi, ma noi non intendiamo illustrare i danni della civiltà, bensì dobbiamo occuparci della selezione e dell'evoluzione.

Per quanto riguarda la produzione industriale, la situazione appare un po' migliore di quella dell'agricoltura. Molti impianti industriali possono funzionare soltanto con l'aria condizionata, cioè con temperatura, umidità atmosferica e illuminazione costanti. Ciò però non fa danno a nessuno (eccetto che alle persone che vi devono lavorare, le quali un giorno avranno disimparato a superare senza danni dei forti cambiamenti nelle condizioni atmosferiche).

La cosa è diversa se esaminiamo i fenomeni collaterali. L'inquinamento dei nostri fiumi con acque di rifiuto industriali e domestici (chi oggi percorre il Reno, di solito non sa che ancora nell'epoca moderna dovette essere vietato ai "signori", da parte del Consiglio della città di Colonia, di far

imbandire per la servitù il salmone più di due volte alla settimana: così abbondanti erano i salmoni allora nel fiume!), il cielo cupo sulle zone industriali, i gas di scappamento che sono un pericolo per i poliziotti addetti al traffico, gli scarti di materie plastiche che le fabbriche non sanno dove buttare (poiché non vengono disintegrati dai batteri, come la carta e il legno), tutto ciò è troppo noto per formare oggetto di trattazione qui. Comunque, che relazione esiste tra tutto questo, la selezione e l'evoluzione? Forse nessuna. Tuttavia non si può escludere totalmente un certo rapporto. Pensiamo al fatto che la pressione della concorrenza, alla quale è sottoposto ogni produttore, sia nell'agricoltura sia nell'industria, può agire anche come pressione di selezione. Può aver successo soltanto quel capo di azienda che applica coerentemente, e in caso di necessità senza scrupoli, tutti i mezzi chimici, tecnici e politici per elevare il profitto, in ogni caso senza preoccuparsi delle eventuali conseguenze accessorie (purché non si eccedano i limiti posti dal legislatore; però leggi del genere hanno bisogno, come insegna l'esperienza, di molto tempo e di molti sostenitori per poter entrare in vigore). Non può esser questo il germe di una evoluzione, che non è stata voluta, ma che un giorno potrà avere effetti nocivi?

Automazione e standardizzazione dell'esistenza

L'uomo si è accinto relativamente tardi al compito di creare un ambiente artificiale e controllato, non soltanto per la sua produzione, ma anche per se stesso, per viverci in modo più piacevole. Perciò si è tanto più sforzato per recuperare il tempo perduto. Ciò appare evidente per quanto riguarda, ad esempio, l'applicazione dell'aria condizionata. (Che vale qui per numerose altre conquiste, come nel capitolo precedente il

quoziente d'intelligenza valeva per il livello psicosociale.) Essa si è intanto estesa non soltanto ai locali di lavoro e di abitazione, ma ai luoghi dove vengono fatti gli acquisti, dove ci si diverte e dove ci si riposa, anzi persino ai veicoli, sia privati sia pubblici, e a molte altre cose. Non è lontano il giorno in cui l'uomo si muoverà esclusivamente in un ambiente condizionato. Soltanto nel suo tempo libero egli cercherà occasionalmente la "libera natura".

Il vantaggio consiste in ciò, che l'ambiente rimane sempre uguale, che l'uomo non deve più né aver freddo né sudare, e non deve costantemente uniformarsi alle mutate circostanze. L'impianto di aria condizionata inoltre non deve più essere azionato; lavora automaticamente, senza l'intervento dell'uomo, e rappresenta oggi uno dei numerosi esempi del rapido progresso nel processo di automatizzazione della vita umana. Scale mobili ed ascensori, lavabiancheria e lavastoviglie, fornelli automatici per cuocere e per preparare arrostiti, avviamento, cambio e accelerazione automatica nelle autovetture. (In seguito non sarà nemmeno più necessario guidare, poiché la vettura verrà pilotata a distanza, automaticamente, da una centrale che la immetterà e la toglierà dalla corrente del traffico.) Potremmo comporre un lungo elenco.

L'ambiente completamente automatizzato, con macchine che non hanno bisogno di servizio, è, se crediamo ai tecnici, una cosa dell'immediato futuro. L'uomo così non ha più bisogno, per molte cose, di affaticarsi. Per molte questioni non ha più bisogno di prendere decisioni. Al mattino, quindi, egli rifornirà il suo calcolatore con i "dati" del giorno e dei suoi progetti. Il calcolatore privato si accorda automaticamente con il calcolatore centrale e fornisce il programma completo della giornata; dice al suo utente quando e dove deve recarsi, quali medicine deve prendere e a quali intervalli di tempo, come debbono essere

composti i suoi pasti e così via. La vita sarà facile e comoda, senza fatiche, senza il peso di decisioni.

Non soltanto, ma la vita sarà anche standardizzata; sarà adattata nel quadro moderno del gruppo sociale, dello stato, e l'adattamento avverrà nel modo più preciso possibile, al fine di evitare attriti. L'uomo dovrà persino imparare a comportarsi secondo le regole dell'automazione. A tale scopo dovrà dimenticare molte sue abilità e molte sue capacità, perché gli mancherà ormai una parte degli incentivi che potrebbero agire come pressione selettiva. Certo ciò non sarà senza effetti per l'evoluzione. Di che genere questi saranno non si può ancora affermare, poiché siamo soltanto all'inizio; saranno evidenti quando avranno raggiunto il loro compimento, ma saranno certo inattesi e spiacevoli.

Non potremo sottrarci ad essi, poiché nell'automatizzazione e nella standardizzazione si esprime un'evoluzione, tanto quanto nel perfezionamento dell'arte medica. Come non è stato possibile opporsi ad essa, ad esempio con la proibizione di sezionare cadaveri, così è da escludere che si ostacoli questo perfezionamento tecnico. La perfezione però è molto costosa e potrebbe darsi che ad un certo momento non si possa più pagarla. Un bel giorno "il grande calcolatore statale" potrebbe scrivere: « Entro un anno le spese per l'automazione e la standardizzazione della vita quotidiana saranno così elevate che voi non potrete più finanziarle. Quindi dovete riservarle soltanto a tre quarti della popolazione ». Si accenderà allora una lotta di genere affatto nuovo per "essere inclusi". Non sorgerà quindi all'improvviso una nuova pressione selettiva, la quale colpirà quegli esseri umani che avranno disimparato molte cose e avranno lasciato atrofizzare le loro migliori capacità?

Ora, questi sono puri ragionamenti astratti, ai quali ci si può abbandonare a piacere,

e secondo il proprio temperamento. Per contro è sicuro che il sistema dell'automazione non soltanto è dispendioso, ma è anche molto esposto a pericoli. La sua integrità dipende dal perfetto stato di tutti gli impianti e dal costante funzionamento delle fonti di energia, in modo che non ci sia alcuna lacuna, alcuna interruzione nel rifornimento. Quanto grande sia già oggi la nostra schiavitù, possiamo farcene un'immagine approssimata. I giornali hanno diffusamente parlato delle conseguenze catastrofiche dell'interruzione della corrente elettrica nell'inverno 1965 per la popolazione di New York. Quali effetti potrebbe avere un simile evento fra 50 anni, se l'interruzione eventualmente si prolungasse per alcune settimane! In poco tempo l'uomo, abituato alle comodità, si troverebbe nella necessità di accendere il fuoco senza fiammiferi e senza accendino elettrico ma soltanto con legna e pietra. Ma in quel tempo avrà già dimenticato come si fa.

7.11 Ancora l'ambiente artificiale

La medicina e la "decadenza biologica"

Il professor Huxley, che abbiamo già conosciuto come propugnatore della evoluzione responsabile, è probabilmente anche l'autore di una frase arguta che viene attribuita a diversi studiosi di medicina: «La medicina è progredita al punto che oggi non ci sono più persone sane». Tale frase dice la stessa cosa dell'ipotesi II, e cioè che l'uomo si crea un mondo artificiale. Ma togliendo di mezzo la selezione naturale e ostacolando l'evoluzione, si è dunque resa colpevole anche la medicina della decadenza qualitativa ed ereditaria?

La frase contiene, come ogni motto di spirito, un'esagerazione ed un nucleo autentico (ed amaro) di verità. È esagerato affermare che non ci siano più persone sane. Naturalmente innumerevoli esseri umani godono pur sempre di eccellente salute, e non hanno ancora mai avuto bisogno di un



L'allevamento moderno dei polli crea un ambiente completamente artificiale.

medico e mai preso una medicina. Ma non essere mai andati dal medico non significa essere sani.

Invece è vero che oggi ci sono molti più ammalati di una volta. Ciò ha certamente diverse cause, in minima parte di carattere medico. Così la disposizione alle malattie degli esseri umani è probabilmente, in modo generale, molto aumentata, in connessione con quella diminuzione qualitativa che abbiamo già rilevato a p. 312. Inoltre si deve tener presente che, nella civiltà odierna, molte persone hanno l'impressione che si pretenda troppo da loro, e perciò si ammalano. Non si deve nemmeno dimenticare la manipolazione chimica di tutte le nostre sostanze alimentari. Molti mezzi anti-parassitari sono dannosi anche per l'uomo e, pur osservando nel modo più scrupoloso le norme per l'uso, non vengono sempre tolti completamente con la lavatura. I resti di tali sostanze si accumulano a poco a poco nel corpo umano e lo avvelenano. E infine, l'intensificazione della radioattività cui siamo esposti da quando si sono iniziati gli esperimenti atomici non rimarrà senza effetti: il numero delle mutazioni aumenta, e quindi anche la probabilità che nascano esseri umani con "fenomeni di contaminazione". Si tratta di malattie misteriose, che possono essere individuate e combattute dai medici soltanto dopo lunghe e accurate ricerche.

La medicina moderna non dovrebbe essere giudicata responsabile di tutto ciò. Essa ha cooperato tuttavia ad accrescere il numero degli ammalati. Anzitutto indirettamente: quanti degli infortunati nelle disgrazie stradali dovrebbero essere classificati fra i "morti per incidenti del traffico", se non disponessimo di cliniche di pronto soccorso organizzate in modo così esemplare? Per opera della medicina moderna essi sopravvivono, ma non tutti diventano nuovamente sani. Possiamo però sperare che si tratti di un fenomeno provvisorio, e che con i nuovi pro-

gressi anche il numero di questi infermi possa ridursi. Non si ridurrà certamente a zero, ma di questo dovrebbe essere stimato responsabile il traffico, non la medicina.

In modo molto più diretto agisce la medicina mediante i farmaci, che vengono prodotti dall'industria farmaceutica e che vengono ordinati dai medici. Con questo non si intende l'abuso delle pastiglie, sul quale il medico generalmente non ha alcuna influenza. S'intendono invece quei farmaci che in prove a breve termine si sono dimostrati di grande vantaggio, ed i cui effetti secondari e posteriori vengono spesso riconosciuti più tardi (troppo tardi).

Una triste celebrità fra di essi si è acquistato un farmaco, sonnifero e tranquillante, molto conosciuto e sperimentato. Future madri, che lo avevano preso durante un determinato stadio della gravidanza, hanno messo al mondo dei figli con orrende malformazioni. È controverso, secondo gli ultimi sviluppi, se sia stato proprio il farmaco a causare le malformazioni. Si pensa che tali difetti abbiano altre cause, e che probabilmente si presentino molto più spesso di quanto si supponesse. Però, normalmente, i bambini malformati non verrebbero portati a termine, ma espulsi preventivamente con aborto: il farmaco avrebbe soltanto l'effetto di farli venire al mondo. Speriamo di poter essere presto meglio informati.

Equamente, non si dovrebbe qui accusare il progresso della medicina, ma soltanto la sperimentazione insufficiente o troppo precipitosa. È da sperare che ulteriori miglioramenti, tanto dei farmaci stessi quanto dei metodi di prova, renderanno tali farmaci meno pericolosi. Resta il dubbio se si possano avere sostanze chimiche completamente innocue.

I casi di cui abbiamo finora parlato non sono particolarmente probanti, se pensiamo alla battuta di Huxley. Con un po' di buona volontà possiamo definirli come "provvisori"; grazie a qualche progresso, anche le

persone colpite potranno essere guarite o addirittura si potrà prevenire l'infermità.

Il nocciolo della battuta dunque è un altro. I medici guariscono oggi milioni di persone che, in tempi passati, sarebbero tutte morte per le loro malattie; almeno nei paesi industrializzati, hanno eliminato le grandi epidemie, dalla peste alla difterite, altre ne tengono sotto controllo. (Qualche volta in modo non molto sicuro: ad esempio la sifilide è in procinto di sfuggire a quel controllo.) Una situazione analoga si ha con le malattie contagiose meno pericolose. (Anche qui bisogna tener conto di certe sorprese: c'è poco da scherzare con l'influenza, come con i funghi che vivono nella pelle. Proprio le "micosi" — dal greco *mykos* = fungo — aumentano rapidamente, probabilmente perché la pelle soffre per gli attuali detergenti e non è più in grado di respingere quei funghi).

Almeno altrettanto impressionanti sono le conquiste della chirurgia. Oggi si eseguono delle operazioni che ancora poco tempo fa erano ritenute impossibili. Si costruiscono reni e cuori artificiali (con materiale sintetico, perché il paziente non formi anticorpi); ogni grande clinica disporrà fra breve di un ricco "magazzino di pezzi di ricambio".

Tali infermità, tali danni non guariscono sempre in modo completo, ma la vita può essere spesso conservata e lo stato generale di salute del paziente spesso viene migliorato. Non si può evitare che aumenti così il numero delle persone non completamente sane. Ma ciò non può avere un grande peso di fronte a quanto si è ottenuto di veramente grandioso! Nessuno vorrà perciò rinunciare al progresso della medicina (se non altro, perché ciascuno di noi potrà averne bisogno un giorno). Ci possono essere delle persone, o profondamente credenti, o fanatici di tutte le tinte, che lo rifiutano, tuttavia non possono arrestarlo: lo sviluppo della medicina è altrettanto poco reversibile quanto quello dell'evoluzione biologica.

Riparazione incompleta di alterazioni da cause ereditarie

E tuttavia il progresso della medicina cela gravi pericoli per l'umanità. Per dirla brevemente, la medicina ripara non soltanto i danni per incidenti e per infezioni, ma ripara anche i danni provocati dall'ereditarietà, e così impedisce la selezione biologica. Vogliamo qui illustrare questa affermazione succinta, che ha suono di minaccia, adducendo qualche esempio.

Una donna che per motivi genetici non avesse la possibilità di portare a termine le gravidanze, era destinata un tempo a rimanere senza figli. Oggi molti nati prematuri vengono allevati accuratamente nell'incubatrice fino al momento in cui sarebbero nati normalmente. Ciò non rappresenta più affatto una difficoltà. Spesso però questi bambini sono molto delicati nella loro esistenza futura, tuttavia *hanno* un'esistenza futura, grazie all'arte medica.

La fenilchetonuria è una malattia del ricambio. Un gene impedisce che l'aminoacido fenilalanina (che ci è già noto dalla prima sintesi proteica artificiale) venga trasformato nell'aminoacido tirosina, essenziale per la vita, e nell'urina compaiono i fenilchetoni; in sé ciò non sarebbe molto grave, se non fosse che il 63 % dei neonati ammalati diventano deficienti, per non dire idioti (quoziente d'intelligenza inferiore a 20; soltanto per il 2,5 % circa supera 60). Fortunatamente questa malattia può essere guarita, se tempestivamente riconosciuta, soprattutto mediante la somministrazione di una dieta povera di fenilalanina. I bambini guariscono e diventano normali, ed in seguito non hanno nemmeno più bisogno di seguire tale dieta.

Nella glicosuria ereditaria (diabete) la produzione dell'ormone insulina — che regola il ricambio dei carboidrati del corpo umano — è disturbata o impedita. Le iniezioni d'insulina non possono guarire questa malattia

a fondo, ma di solito i pazienti riacquistano la loro piena efficienza.

Questi ed altri inconvenienti vengono riparati, non sempre in modo perfetto, ma nei limiti del possibile. Però vengono rimosse soltanto le manifestazioni delle malattie, mentre il difetto genetico che le ha prodotte non viene risanato. E se le persone che ne sono affette si riproducono, lasciano in eredità il loro difetto genetico a una parte dei loro figli.

Diciamo, per prevenire eventuali equivoci, che fortunatamente non tutti i parti prematuri e i casi di deficienza psichica o i difetti organici sono dovuti a cause ereditarie. Spesso la causa risiede soltanto in disturbi dello sviluppo, che colpiscono bambini in sé normali. Questi disturbi non sono dovuti all'ereditarietà, e il bambino ammalato ha fratelli e sorelle normali.

Però, quando i difetti sono dovuti a cause ereditarie, vengono trasmessi alla discendenza invece di essere estinti, come per l'innanzi, per mezzo della selezione biologica. I difetti non scompaiono, ma si diffondono nella popolazione.

Frequentemente le persone colpite sono malsane per tutta la vita e non acquistano mai una piena capacità di lavoro; le nostre istituzioni sociali hanno cura che esse non soccombano; in caso di necessità vengono mantenute a spese della collettività (del "gruppo sociale"). Anche in questo caso viene impedita la selezione biologica.

Infine, ricordiamo ancora un inconveniente che forse non dà nell'occhio, ma che è molto più diffuso dei difetti or ora ricordati e che ha come conseguenza quella di impedire la selezione naturale. Intendiamo la applicazione sovente illimitata degli antibiotici, di quei farmaci moderni che uccidono i batteri e i virus o almeno ne impediscono la moltiplicazione³. Noi li conosciamo già come penicillina, streptomina, eccetera dalle nostre ricerche sul fattore di resistenza RTF. Oggi le infezioni vengono spesso combattute sommariamente, quasi schematica-

mente ("in modo standardizzato") con gli antibiotici: si dà "una dose urto di penicillina", e in seguito si tiene il corpo per il tempo necessario "sotto penicillina".

Ora, i batteri e i virus sono dei protagonisti dell'infezione in antagonismo con il corpo umano. Un altro metodo di cura sarebbe quello di rinforzare quest'ultimo nelle sue difese biologico-immunitarie (metodo certamente più difficile). Precedentemente tale metodo era, si può dire, l'unico possibile. Oggi lo si è generalmente abbandonato e si preferisce applicare i mezzi chimici, che agiscono rapidamente, danno affidamento e sono standardizzati. I successi sono stati (e per la maggior parte lo sono ancora oggi) così convincenti che per qualche tempo si è creduto di dominare tutte le infezioni.

Considerato nell'aspetto biologico, ciò è però molto preoccupante. In tutti i tempi sono esistiti individui dotati di forti difese (per una efficiente formazione di anticorpi) ed altri senza difese, con tutte le gradazioni immaginabili fra questi due estremi. Un tempo, o l'infezione veniva superata (avendo per conseguenza una maggiore immunizzazione) oppure l'individuo soccombeva e moriva, perché le sue difese erano troppo deboli. Così avveniva molto semplicemente, ma anche molto inesorabilmente, la selezione. Il risultato di tale selezione era la sopravvivenza degli individui dotati di un maggior grado di immunità. Si aveva (inconsciamente) un "allevamento" fondato sulla integrità della reazione immunitaria. Oggi i pazienti, abitualmente senza alcuna distinzione, vengono trattati con gli antibiotici, sia che dispongano di proprie forze di difesa sia che non ne dispongano. Il meccanismo di selezione è messo fuori uso, poiché gli "immunologicamente deboli" non vengono più eliminati, e sopravvivono allo stesso modo degli "immunologicamente forti". Ed anche i "forti" si indeboliscono nelle loro reazioni di difesa, per "mancanza di esercizio". Così la quota rappresentata da quelli

che non hanno già da principio alcuna forza di difesa diventa sempre più grande.

Per fortuna ci sono ancora molti medici, per i quali il paziente, come individuo, è più importante del rapido processo di guarigione standardizzato. E anche quando i pazienti, come sovente capita, addirittura esigono gli antibiotici, esaminano attentamente se in tal modo non andrebbero a caccia di passerai con il cannone. Ma non si può chiedere troppo ai medici perché sovente una rapida guarigione è necessaria. I medici non potranno impedire la distruzione delle proprietà immunologiche, tutt'al più potranno rallentarla.

Il prof. Koprowski dà istruzioni al suo pronipote sull'uso degli antibiotici

La terapia antibiotica ha inoltre un altro effetto. Basta che ci ricordiamo del capitolo riguardante la genetica, specialmente della resistenza e del fattore RTF. I batteri e i virus non stanno inattivi di fronte all'inondazione con gli antibiotici, ma mutano in forme resistenti (in questo è loro di grande aiuto il fattore RTF), e queste nuove forme a loro volta devono essere combattute con nuovi antibiotici (perché la reazione immunitaria dei pazienti si è indebolita). Si è iniziata una corsa fra mutazione e scoperta di nuovi antibiotici, e non è ancora affatto deciso chi sarà il vincitore. Quindi noi non dominiamo le malattie infettive nella misura in cui credevamo nell'euforia dei primi grandi successi.

Il prof. Koprowski, di Filadelfia, uno dei partecipanti al simposio di Londra così spesso citato, ha chiuso la sua conferenza sul futuro delle malattie infettive e dei tumori con una « Lettera al suo pronipote, per il caso volesse diventare medico ». Si riportano alcuni paragrafi di questa lettera, piena di spirito e di brio, ma anche di considerazioni profonde e di rassegnazione; essi

contengono quanto si può dire come conclusione.

« 1. Usa un calcolatore per la diagnosi delle malattie che puoi riconoscere facilmente all'inizio. Se ti imbatti in una infezione, causata da un germe patogeno che non è considerato nei manuali sugli organismi patogeni, devi impiegare tanto tempo e tanta energia per preparare i dati destinati ad alimentare il calcolatore che puoi adoperare altrettanto bene ciò che trovi nella vecchia buona valigetta che serve al medico per arrangiarsi da solo...

« 6. Non affidarti a programmi, secondo i quali le malattie infettive devono venire stroncate. Spingeresti soltanto i germi patogeni nel sottosuolo, dove essi inizierebbero una guerriglia destinata a non finire mai.

« 7. Quando viene trovato un antibiotico di efficacia universale, fonda subito delle associazioni aventi per scopo di ostacolare l'uso. Noi dobbiamo comportarci in questo caso come avremmo dovuto comportarci con la bomba atomica (e come non ci siamo comportati). Devi utilizzare ogni mezzo intimidatorio nazionale e internazionale per evitare che il nuovo antibiotico cada nelle mani di gente ottusa, che probabilmente anche al tempo tuo rappresenterà la maggioranza. »

7.12 Conclusioni

Cerchiamo infine di giungere a una conclusione e di rispondere alla domanda sul futuro dell'uomo.

L'evoluzione degli organismi, specialmente quella dell'uomo, è manifestamente ancora lontana dall'entrare nella sua terza fase, quella della consapevolezza e della responsabilità (secondo l'ipotesi I). Esistono i programmi a questo proposito, ma le previsioni positive sulla loro attuazione sono scarse, a meno che una catastrofe mondiale ci costringa ad applicarli. Finora l'umanità si è limitata ad eliminare i meccanismi biologici del-

la selezione, impedendo così l'evoluzione "positiva", mentre non ha a disposizione altri principi di selezione (ipotesi II). Ciò ha portato a risultati grandi, ma di durata molto breve. Risulta chiaro ad ogni persona avveduta che bisogna pagare tutti i vantaggi conseguiti. Ma chi al momento avrebbe saputo prevedere che oggi e in avvenire ci sarebbero stati presentati sempre nuovi conti per progressi che ormai stanno indietro nel tempo? Oggi noi paghiamo per l'inquinamento dell'aria e delle acque, per il fattore di resistenza RTF, eccetera, e domani dovremo pagare per la decadenza ereditaria, per la "degenerazione genetica", e non se ne può vedere la fine.

Questo è certo: noi siamo intervenuti nel meccanismo della selezione biologica e nell'evoluzione: le conseguenze sono inevitabili, poiché l'evoluzione è irreversibile. Anche se lo volessimo, non potremmo più an-

nullare ciò che abbiamo causato anche solo con l'eliminazione di alcuni meccanismi di selezione. L'uomo come individuo vorrà opporre resistenza; come membro della catena evolutiva è troppo insignificante per poter essere interpellato. Questa tensione fra l'individuo e l'evoluzione (non, come spesso si proclama, fra l'individuo e la società) ha fatto dell'uomo ciò che egli è e ciò che sarà sempre anche in futuro: l'essere tragico.

Nemmeno la biologia moderna può cambiare questa realtà, e tanto meno lo può in quanto essa non è responsabile né della società moderna né dell'evoluzione avutasi fino ad oggi e futura (nessuno le ha mai posto domande). Essa può soltanto aiutare ad individuare le leggi, a segnalare come sbagliate le vie sbagliate, e a rendere fruttuosa la tensione fra l'individuo e la legge biologica dell'evoluzione.

¹ Gli antichi infatti, ed anche i moderni sino al XVII secolo, ignoravano il *metodo sperimentale* quale strumento di ricerca anche se greci, latini e arabi avevano effettuato qualche sperimentazione. Il metodo sperimentale, introdotto nella scienza da Galileo, fu applicato alla indagine biologica con un certo ritardo e divenne prassi comune solo nel secolo scorso, ma già nel '600 si poté assistere alla comparsa dei primi artifici sperimentali che segnarono la nascita della fisiologia. La più importante applicazione del metodo sperimentale nel XVII secolo fu quella con cui Francesco Redi, versatile e ingegnoso osservatore della natura, grammatico, retore e prosatore di chiara fama, medico, filosofo e accademico del Cimento, riuscì a dirimere l'antica disputa relativa alla generazione spontanea.

Redi infatti aveva assunto una posizione di aperta rottura nei confronti dei cosiddetti "savi" antichi e moderni in quanto intendeva vedere con i propri occhi e ragionare con la propria testa prima di accettare gli assiomi che costituivano il corpo delle conoscenze "scientifiche" del tempo. Quindi piuttosto che accettare l'idea degli antichi e dei contemporanei secondo cui gli animali di piccole dimensioni, come ad esempio gli insetti, venivano spontaneamente generati dalla terra e da tutti gli animali vivi e morti nonché da tutte le cose prodotte dalla terra, era propenso a credere che « tutti quei vermi si generino dal seme paterno; e che le carni, e l'erbe e l'altre cose tutte putrefatte, e putrefattibili, non facciano altra parte né abbiano altro ufficio nella generazione degli insetti, se non di apprestare un luogo, o un nido proporzionato, in cui dagli animali nel tempo della figliatura sieno portati e partoriti i vermi, e l'uova, o l'altre

semenze di vermi, i quali tosto che nati sono trovano in esso nido, sufficiente nutrimento abilissimo per nutrirsi, e se in quello non son portate dalle madri queste suddette semenze, niente mai, e replicatamente niente vi si generi o nasca ». E per dimostrare la veridicità di ciò effettuò una serie di esperimenti pregevolmente chiari e precisi iniziando a osservare quello che succede nelle carni lasciate putrefare all'aria aperta e quindi in quelle che si putrefacevano in vasi chiusi, fuori del contatto dell'aria e in vasi in cui poteva filtrare l'aria e niente altro. Riuscì così a provare che le mosche che nascono dalla carne marcita originano da uova precedentemente depositate poiché nei vasi chiusi in cui la carne era preservata dal contatto di animali non si sviluppava assolutamente nulla e questo fu il punto di partenza per la dimostrazione della falsità della credenza secondo cui i vermi nascono dal letame e di innumerevoli altre assurdità biologiche tramandate sin dall'antichità. Ciò però non fu affatto sufficiente a persuadere gli scettici contemporanei, tant'è vero che un prete, il padre Atanasio Kircher, entrò in polemica con lui non solo sostenendo che mosche e vermi nascono spontaneamente ma addirittura fornendo una ricetta infallibile per ottenere le rane partendo dalla terra dei fossati.

La polemica si protrasse poi per anni benché naturalisti come Malpighi e Vallisnieri convalidassero le esperienze del Redi e dimostrassero che neppure gli insetti gallicoli si producono spontaneamente, per virtù delle piante. Nel secolo successivo la polemica, ormai esaurita per gli animali macroscopici, riprese vivacissima a proposito degli esseri unicellulari, in particolare degli infusori, protozoi da poco scoperti.

Infatti un sacerdote inglese, Turbeville Needham, aveva eseguito una serie di esperienze in cui dopo aver sottoposto al riscaldamento (ma non all'ebollizione) infusi di vegetali o di carni contenuti in scatole chiuse, poteva osservare la nascita di infusori. Queste esperienze vennero poi integrate da Buffon nel sistema della generazione da lui messo a punto, basato sulla esistenza di molecole organiche dotate di una sorta di "impronta interna" capace di trasformarsi in materia vivente organizzata. Queste molecole, quando l'organismo muore, restano libere nell'acqua e nell'aria sino a che entrano a far parte di un altro individuo, oppure unendosi a molecole di materia bruta, formano piccoli organismi come quelli chiamati infusori.

Pochi anni dopo entrò in scena un altro abate, professore alle università di Reggio Emilia, Modena e Pavia, Lazzaro Spallanzani, il cui spirito positivo non riusciva a convincersi delle conclusioni di Needham e Buffon. Spallanzani, dopo aver ripetuto gli esperimenti descritti da Needham ed aver atteso pazientemente al microscopio per 4 ore, poté vedere i protozoi nascere dalle loro cisti; quindi, ripetendo per ben 25 volte la preparazione dell'infusione con carni bollite da cui non nasceva nessun protozoo, poté dimostrare anche l'erroneità della metodologia dell'inglese il quale, tra l'altro, non aveva neppure saputo cautelarsi pienamente contro le infiltrazioni d'aria nei suoi preparati. Perciò facendo bollire i vasi contenenti le infusioni ermeticamente chiusi alla fiamma, in cui la presenza di spore era assolutamente impossibile e in cui non si sviluppava nessun protozoo, poté smantellare dalle fondamenta la teoria della generazione spontanea anche per quanto riguarda gli animali microscopici.

Ma un secolo dopo la questione doveva riaprirsi a proposito di esseri ancora più piccoli dei protozoi, i batteri, e vedeva schierarsi su opposte posizioni F. A. Pouchet, sostenitore della generazione spontanea, e Louis Pasteur che dimostrò dapprima a una commissione di accademici delle scienze, quindi al grosso pubblico, l'impossibilità assoluta della generazione spontanea anche relativamente ai batteri. Ora nessuno pensa di rimettere in discussione questo principio ma sussiste la possibilità teorica che in altre ere geologiche una sorta di generazione spontanea abbia potuto verificarsi per organismi ancora più piccoli e meno complessi, come verrà illustrato nei paragrafi successivi. [N.d.R.]

² Una simile affermazione, che oggi scivola assiomaticamente nel contesto di innumerevoli proposizioni scientifiche, ha rappresentato l'evento più importante nella storia della biologia, e forse anche del pensiero, del secolo scorso. Ne siamo debitori a Charles Darwin che nel novembre del 1859, con la pubblicazione del libro *L'Origine della specie*, sconvolse l'idea convenzionale del mondo e della vita riuscendo a documentare e dimostrare in maniera difficilmente contestabile l'assurdità dell'ipotesi creazionistica di Linneo, secondo la quale le specie viventi erano state create da Dio una volta per tutte.

La teoria evoluzionistica maturò nella mente di Darwin in seguito a un viaggio di cinque anni da lui compiuto in qualità di naturalista sul brigantino *Beagle*, armato dall'Ammiragliato britannico per fare rilievi lungo le coste dell'America meridionale e nei mari

del Sud. Durante questo viaggio Darwin era rimasto profondamente colpito da una serie di osservazioni: ad esempio la scoperta di animali fossili provvisti di corazze simili a quelle degli attuali armadilli, la presenza in aree geografiche vicine di specie molto simili ma con caratteristiche diverse, la comparsa di razze e varietà nelle specie animali e vegetali in condizioni di domesticità, inoltre aveva accuratamente studiato i *Principi di geologia* di Lyell, autore della teoria dell'attualismo secondo la quale le variazioni geologiche sono determinate dall'azione prolungata nel tempo di quegli stessi fenomeni che si verificano, a volte con grande lentezza, sotto i nostri occhi. Tornato in Inghilterra si dedicò a raccogliere tutto il materiale reperibile inerente le variazioni degli animali e delle piante, fossero esse causate da agenti naturali o dall'azione dell'uomo, e ben presto capì che in questo secondo caso i successi realizzati erano attribuibili ad accurati lavori di selezione ma il ruolo svolto dalla selezione in natura gli restò oscuro per qualche tempo, ossia sino a che, a un anno e mezzo dall'inizio delle ricerche, non si imbatté nel *Saggio sui principi della popolazione*. In quest'opera Thomas Robert Malthus, pastore anglicano studioso di economia, sostiene che la popolazione umana tende ad aumentare in proporzione geometrica, mentre i mezzi di sussistenza aumentano soltanto in progressione aritmetica; pertanto, essendo ad ogni generazione un certo numero di individui irrimediabilmente destinato a morire, ne consegue che gli individui sono ingaggiati in una lotta per l'esistenza in cui molti soccombono. Darwin riconobbe in ciò un principio universalmente valido: hanno probabilità di sopravvivere, quindi di tramandare i loro caratteri alla discendenza, gli individui (animali o vegetali) più robusti, in quanto i più deboli sono destinati a morire. La natura opera così una selezione che agisce di continuo e permette la sopravvivenza degli individui più adatti al luogo in cui devono vivere, consentendo quindi alle specie viventi di evolversi nel senso del miglior adattamento. [N.d.R.]

³ Ci pare interessante precisare che recentemente il nome di *antibiotici*, all'inizio riservato ai prodotti del metabolismo microbico capaci di inibire una o più funzioni vitali di cellule viventi (soprattutto microrganismi patogeni per l'uomo, gli animali e le piante), è stato esteso sia alle sostanze ottenute chimicamente da prodotti naturali (*antibiotici semisintetici*) sia ai prodotti naturali capaci di combattere le infezioni da virus (*antibiotici antivirali*) e di bloccare la moltiplicazione dei tumori (*antibiotici antitumorali*). L'impiego terapeutico degli antibiotici è l'ultima fase di una lunga serie di ricerche di laboratorio. In primo luogo viene definito lo spettro di attività dell'antibiotico incorporando quantità stabilite dall'antibiotico in esame a terreni nutritivi utilizzati per la coltura di funghi e batteri patogeni ed esaminando l'effetto inibitore dell'antibiotico nei confronti della crescita dei vari microrganismi mediante controllo con la crescita degli stessi microrganismi su terreni privi di antibiotico. Si procede quindi al dosaggio dell'antibiotico, ossia se ne stabilisce la potenza valutando l'ampiezza dell'inibizione esercitata da una certa quantità di antibiotico sulla crescita di una coltura batterica. Infine se ne stabilisce la tossicità nei confronti degli animali ai quali deve essere poi somministrato, iniet-

Il limo primordiale e l'uomo dell'avvenire

tandone una soluzione negli animali da laboratorio ed esaminandone quindi gli effetti, il che viene realizzato particolarmente bene nei casi in cui è stato possibile incorporare nell'antibiotico in esame un radioisotopo.

L'impiego terapeutico degli antibiotici deve anche tenere conto della *resistenza batterica*, capacità di resistere all'azione antibiotica che i batteri possono acquisire, probabilmente in seguito a mutazioni, qualora il farmaco sia somministrato in dosi insufficienti e per un periodo troppo lungo. Infatti i batteri diventati antibioticoresistenti vengono bloccati, e non sempre, da dosi incredibilmente grandi, capaci di pro-

curare disturbi, peraltro non gravi, anche nell'animale (o nell'uomo) trattato. Così, ad esempio, la penicillina ad alte dosi può causare disturbi allergici in individui sensibili, le tetracicline possono determinare nausea, vomiti, diarree, glossiti e avitaminosi del gruppo B, la bacitracina può disturbare le funzioni epatiche e renali. Fortunatamente però si è riscontrato, sperimentalmente e clinicamente, che gli antibiotici somministrati in associazione tra loro o con chemioterapici (per esempio sulfamidici) non solo possono potenziare la loro attività, ma in certi casi, possono anche aver ragione degli stipti di batteri resistenti. [N. d. R.]